

Université de Montréal

Rôle du test génétique dans la cardiomyopathie arythmogène du ventricule droit.
Étude sur une cohorte prospective unicentrique.

par

Catherine Barahona-Dussault

Département de Médecine, Université de Montréal

Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la faculté de médecine

en vue de l'obtention du grade

de Maître ès sciences (M.Sc.)

en Sciences biomédicales, option générale

Août 2008

© Catherine Barahona-Dussault, 2008

Université de Montréal

Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

Rôle du test génétique dans la cardiomyopathie arythmogène du ventricule droit.
Étude sur une cohorte prospective unicentrique.

Présenté par :

Catherine Barahona-Dussault

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Président(e)-rapporteur(e) : Marie-Pierre Dubé

Directeur de recherche : Ramon Brugada

Membre du jury: Robert Dumaine

Résumé

La cardiomyopathie/dysplasie arythmogène du ventricule droit (ARVC/D) est un désordre d'origine génétique caractérisé par le remplacement du myocarde par du tissu fibro-adipeux dans le ventricule droit. Ce désordre est responsable d'un grand pourcentage de mort subite, spécialement chez les plus jeunes. ARVC/D est difficile à diagnostiquer avec les outils cliniques actuels. Elle est causée en grande majorité par des mutations dans les protéines desmosomales. ARVC/D a donc des implications d'une grande importance chez les membres de la famille, qui peuvent sans le savoir, être aussi à risque de mort subite. Dans le but d'améliorer le diagnostic, un nouvel outil, le test génétique, est de plus en plus utilisé.

Hypothèses: Dans le but d'évaluer la valeur du test génétique en complément du test clinique classique chez ARVC/D nous avons effectué une investigation clinique et génétique chez 23 cas-index atteints.

Méthodes: Les cas-index sont diagnostiqués après une mort subite dans la famille ou après un examen clinique poussé pour arythmies. Le diagnostic d'ARVC/D a été fait avec les outils cliniques selon les critères. L'analyse génétique des protéines desmosomales associées à la maladie a été effectuée en séquençant leurs exons ainsi que les régions introniques nécessaires à l'épissage alternatif.

Résultats: Le diagnostic clinique était clair dans 18/23 et incertain dans 5/23 des individus. Nous avons identifié 15 différentes mutations chez 10 cas-index. 64% des mutations n'avaient jamais été décrites. De plus, nous avons observé la présence de double ou triple mutant dans 40% des cas-index positifs. Les individus avec mutations sont plus jeunes et ont plus de symptômes que les individus sans mutation.

Conclusion: Les tests génétiques sont positifs dans 43% des patients avec ARVC/D. L'utilisation de la technologie génétique basée sur l'identification de mutations connues a une valeur limitée vu le haut pourcentage des mutations nouvelles dans la maladie. La présence de double, même de triple mutant n'est pas associée avec un phénotype plus sévère, mais renforce l'idée de la nécessité d'un test génétique pour tous les gènes. Le test génétique est un outil fort utile à ajouter aux tests cliniques pour le diagnostic des patients qui ne remplissent pas tous les critères cliniques de la maladie.

Mots clés: génétique, ARVC/D, mort subite, desmosome

Résumé en anglais —Abstract

Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia (ARVC/D) is a genetic disorder characterized by the presence of fibro-fatty replacement of the myocardium in the right ventricle. The disease is thought responsible for an important percentage of sudden cardiac death in the young. Hence the disease is usually difficult to diagnose with present clinical tools. ARVC/D is it caused in greater part by mutations in desmosomal proteins. The diagnosis of the genetic carriers bears important implications in family members, who unknowingly may be at risk for sudden death. In order to improve the diagnosis, a new tool, genetic testing, is increasingly being used.

Hypothesis: In order to assess the value of genetic testing in complementing clinical testing in ARVC/D, we undertook the project to collect and perform clinical and genetic investigation in 23 probands with the disease.

Methods: The probands were usually identified either after the death of a family member or after their clinical investigation for arrhythmias. The diagnosis of ARVC was made with clinical tools according to accepted criteria. Genetic analysis of desmosomal proteins previously associated with the disease was performed by sequencing the exons and intron-exon boundaries.

Results: The clinical diagnosis was clear in 18/23 and suspicious in 5/23 individuals. We identified 15 different mutations in 10 probands. 64% of the mutations were not previously described. Interestingly we also observed the presence of double or triple mutants in 40% of the positive individuals. Individuals with mutations were younger and had more symptoms than individuals with no mutation.

Conclusion: Genetic testing is useful in 43% of patients with ARVC. The use of mutation-based genetic technology has a very limited value due to the high percentage of previously unknown mutations in this disease. The presence of double and even triple mutants is not associated with a more severe phenotype but it indicates the need to have genetic testing performed for all genes for familial screening. Genetic testing is a useful tool to add to the clinical testing for the diagnosis of patients who do not completely fulfill the clinical criteria for the disease.

Key words: genetic, ARVC/D, sudden death, desmosome

Table des matières

Titre.....	I
Identification du jury.....	II
Résumé en français.....	III
Résumé en anglais— <i>Abstract</i>	IV
Table des matières.....	V
Liste des tableaux.....	VIII
Liste des figures.....	IX
Liste des sigles et abréviations.....	X
Remerciements.....	XII
 Chapitre 1. Introduction	 1
1. Le cœur humain.....	1
1.1 Structure.....	1
1.2 Révolution cardiaque.....	3
1.2.1 Diastole et systole.....	3
1.3 Automatisme cardiaque.....	4
2. Techniques.....	5
2.1 L'électrocardiographie.....	5
2.1.1 Les dérivations.....	6
2.1.2 Les ondes.....	6
2.1.3 Les intervalles.....	6
2.2 Holter cardiaque.....	8
3. Maladie du myocarde.....	9
3.1 Cardiomyopathie d'origine extrinsèque ou secondaire.....	9
3.2 Cardiomyopathie d'origine intrinsèque ou primitive.....	9
3.3 Groupes de cardiomyopathies.....	10
3.3.1 Prise en charge.....	10
4. Cardiomyopathie arythmogène du ventricule droit.....	11
4.1 Pathophysiologie.....	11
4.2 Pathobiologie.....	13

4.2.1 Théorie Disontogénétique.....	13
4.2.2 Théorie Dégénérative/Dystrophique.....	13
4.2.3 Théorie Inflammatoire.....	13
4.3 Diagnostique et constatations cliniques.....	14
4.3.1 Caractéristiques sur l'électrocardiogramme.....	15
4.3.2 Critères diagnostique.....	15
4.4 Génétique.....	17
4.4.1 Desmosomes.....	18
4.5 Mécanismes.....	20
4.5.1 Effets pathogènes au niveau des desmosomes.....	20
4.5.2 Effets pathogènes au niveau des disques intercalaires.....	21
4.5.3 Effets pathogènes au niveau de la voie de la Wnt/ β -caténine.....	21
4.6 Aera composita.. ..	23
4.7 Connexine 43.....	23
4.8 Théorie Inflammatoire.....	24
4.8.1 Rôles des virus.....	24
4.8.2 Rôle de l'apoptose.....	25
4.9 Relation génotype-phénotype.....	26
4.9.1 Mutations desmosomales.....	26
4.9.1.1 Plakophiline-2.....	26
4.9.1.2 Desmoplakine.....	28
4.9.1.3 Plakoglobine.....	31
4.9.1.4 Desmogléine-2.....	32
4.9.1.5 Desmocolline-2.....	32
4.9.2 Mutations non-desmosomales.....	33
4.9.2.1 Facteur de croissance bêta-3.....	33
4.9.2.2 Récepteur cardiaque de la ryanodine.....	33
4.10 Implications cliniques.....	34
4.11 Perspectives.....	35
4.12 Objectifs.....	35
Accord des coauteurs de l'article.....	36

Ajout d'une auteure.....	37
Apport des différents auteurs de l'article.....	38
Chapitre 2. Article.....	39
Role of genetic testing in ARVC. Experience from a single center prospective cohort.	
Chapitre 3. Discussion.....	63
1.1 Mise en contexte.....	63
1.2 Objectifs.....	63
1.3 Méthodologie.....	64
1.4 Analyse des résultats.....	64
1.5 Conclusion.....	67
Références.....	69

Liste des tableaux**Chapitre 1. Introduction**

Tableau 1.1 : Liste des critères du groupe de travail pour diagnostiquer ARVC/D.....16

Liste des figures

Chapitre 1. Introduction

Figure 1.1 Représentation schématique de l'anatomie du cœur.....	3
Figure 1.2 Représentation schématique d'un rythme sinusal d'un cœur humain tel que vu sur un électrocardiogramme.....	7
Figure 1.3 Ventricule droit atteint d'ARVC/D.....	12
Figure 1.4 Représentation schématique d'une partie d'un électrocardiogramme.....	15
Figure 1.5 Représentation schématique de l'organisation relative des composantes majeures des desmosomes	18
Figure 1.6 : Représentation schématique des effets pathogènes de la voie de la Wnt/ β -caténine.....	22
Figure 1.7 : Représentation schématique des deux mécanismes possible lors d'une mutation dans la desmoplakine menant à deux phénotypes différents.....	31

Liste des sigles et abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique
ARVC/D : Cardiomyopathie/ dysplasie arythmogène du ventricule droit
(Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy/Dysplasia)
BVP : Battements Ventriculaires Prématursés
CPP32 : Protéase à cystéine 32/caspase 32 (cystein protease)
CVDA : Cardiomyopathie Ventriculaire Droite Arythmogène
Cx43 : Connexine 43
DCM : Cardiomyopathie dilatée (Dilated Cardiomyopathy)
DES : Desmine
DM : Milieu dense (dense midline)
DSC2 : Desmocolline-2
DSG2 : Desmoglénine-2
DSP : Desmoplakine
ECG : Électrocardiogramme
ECG HA : Électrocardiogramme à Haute Amplification
FÉ : Fraction d'Éjection
HCM : Cardiomyopathie hypertrophique (Hypertrophic Cardiomyopathy)
IDP : Plaque intérieure dense (Inner Dense Plaque)
JUP : Plakoglobine (Junctionnal Plakoglobin)
MCS : Mort Cardiaque Subite
ODP : Plaque extérieure dense (Outer Dense Plaque)
PCR : Réaction de polymérase en chaîne (Polymerase Chain Reaction)
PG : Plakoglobine
PKA : Protéine kinase A
PKC : Protéine kinase C
PKP2 : Plakophilin-2
PM : Membrane plasmique (Plasma Membrane)
R2834H : Remplacement d'arginine à la position 2834 pour une histidine
RyR2 : Récepteur de la ryanodine-2 (Ryanodine Receptor 2)

TCF/LEF : Facteur de cellule-T/Facteur d'amplification lymphoïde (T-cell factor/lymphoid enhancer factor)

TFC : Critères du groupe de travail (Task Force Criteria)

TGF- β 3 : Facteur de croissance bêta-3 (Transforming growth factor beta-3)

TV-BBG : Tachycardie Ventriculaire au niveau du Bloc de Branche Gauche

UTR : Région non-transcrite (Untranslated region)

VD : Ventricule droit

VG : Ventricule gauche

WNT/ β -caténine : Contraction des gènes Wg et INT/ β -caténine

Remerciements

J'aimerais tout d'abord remercier ma famille et mes amis qui m'ont offert un support moral inégalable tout au long de ma maîtrise et de la rédaction du mémoire. Merci à ma mère Isabel et mon petit frère Alexandre pour les courriels positifs et inspirants. Merci à Anne Nguyen, Cynthia Forlini, et Audrey Roussel-Gervais pour votre support et réconfort durant ces deux années. Aussi, un merci à mon copain Guillaume Longchamps pour les encouragements quotidiens et son soutien constant.

Je voudrais aussi faire part de ma grande reconnaissance aux membres de mon laboratoire, Jose Flores, pour ses conseils précieux en tout genre, Oscar Campuzano, pour son aide de tous les jours, Begoña Benito et Anna Iglesias pour leurs nombreux services, et mon patron Ramon Brugada, pour son support financier et son encadrement. Un remerciement tout spécial à Liette Lemaire de la Clinique de Génétique cardiovasculaire de l'Institut de Cardiologie de Montréal, pour son sourire de tous les jours et le support vis-à-vis mon projet, et ma personne.

Chapitre 1. Introduction

1. Le cœur humain

Le cœur est un organe creux et musculaire qui assure la circulation du sang en pompant le sang par des contractions rythmiques vers les vaisseaux sanguins qui le véhiculent dans tous les tissus de l'organisme humain. Le cœur est la pompe du système circulatoire [1].

1.1 Structure

Dans le corps humain, le cœur se situe dans le médiastin. C'est la partie médiane de la cage thoracique délimitée par les deux poumons, le sternum et la colonne vertébrale. Il se trouve un peu à gauche du centre du thorax, en arrière du sternum, sur le diaphragme, et est entouré par les poumons. Le cœur est constitué de quatre cavités : deux oreillettes en haut, et deux ventricules en bas [1].

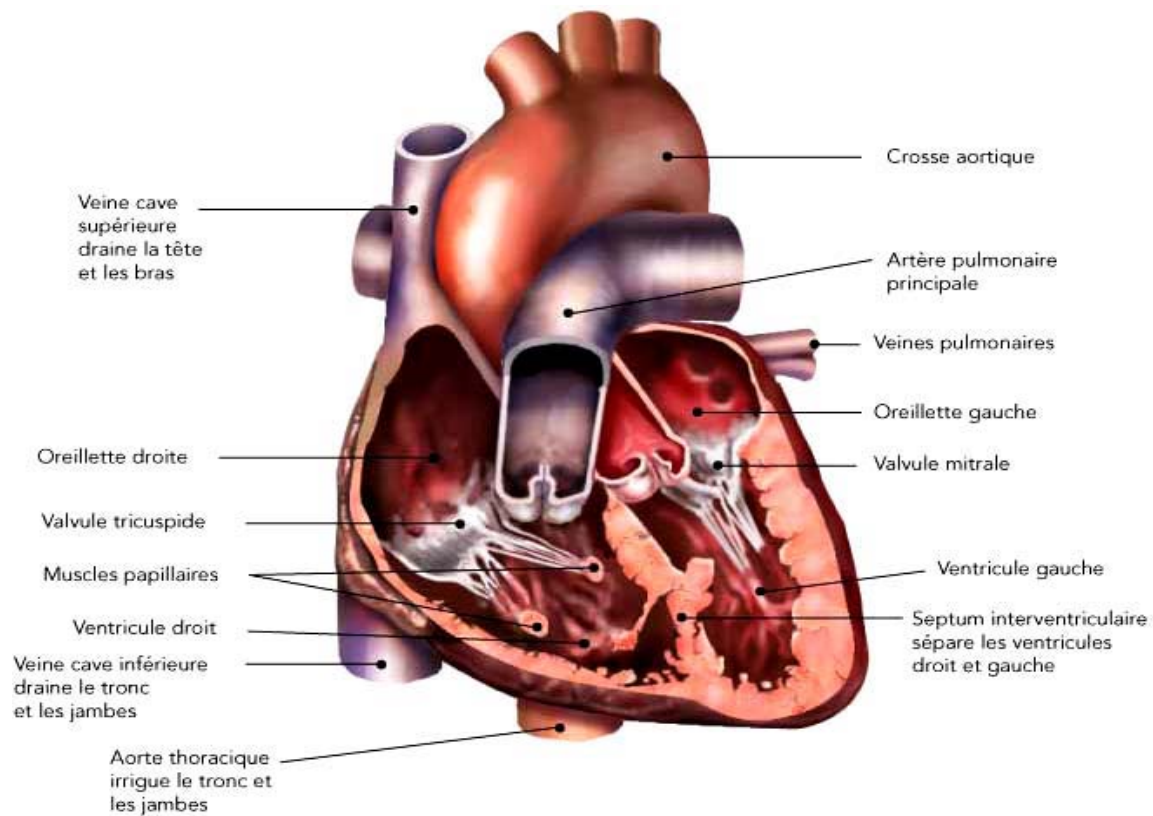
Le septum, un mur musculaire épais, divise l'oreillette et le ventricule gauche de l'oreillette et le ventricule droit, évitant le passage de sang entre les deux moitiés du cœur. Des valves entre les oreillettes et les ventricules assurent le passage unidirectionnel coordonné du sang depuis les oreillettes vers les ventricules. Ces cavités sont accouplées deux à deux pour former un double circuit, c'est-à-dire, deux cœurs accolés l'un à l'autre, et distincts l'un de l'autre : un cœur droit dit veineux, et un cœur gauche dit artériel.

Les ventricules cardiaques ont pour fonction de pomper le sang vers les tissus du corps ou vers les poumons. Leurs parois sont plus épaisses que celles des oreillettes, et la contraction des ventricules est plus importante pour la distribution sanguine.

Le cœur droit reçoit le sang appauvri en oxygène qui arrive dans l'oreillette droite par la veine cave supérieure, inférieure, et le sinus coronaire. Ce sang passe dans le ventricule droit au travers de la valve tricuspide. Le ventricule droit chasse le sang à travers l'artère pulmonaire pour aller dans les poumons. Il y abandonne le gaz carbonique et se recharge en oxygène.

Le cœur gauche reçoit ce sang saturé en oxygène dans l'oreillette gauche via le canal des veines pulmonaires. Le sang passe dans le ventricule gauche à travers la valve mitrale. Celui-ci est la chambre pompante principale, ayant pour but d'envoyer le sang par l'aorte vers toutes les parties du corps sauf les poumons. Il va abandonner aux tissus son oxygène et les débarrasser de leur gaz carbonique. Le ventricule gauche est bien plus massif que le droit parce qu'il doit exercer une force considérable pour forcer le sang à traverser tout le corps contre la pression corporelle, tandis que le ventricule droit ne dessert que les poumons [1].

La paroi du cœur est composée d'un muscle qui ne se fatigue pas. Le myocarde est le tissu musculaire. Les tissus annexes du myocarde sont l'endocarde (plus à l'intérieur, un endothélium spécialisé) et le péricarde (couche de tissu conjonctif entourant le cœur). Le myocarde est composé de cellules musculaires cardiaques spécialisées, les cardiomyocytes, qui ne ressemblent à aucun autre tissu musculaire du corps. En particulier, ces cellules sont intétanisables, ce qui signifie qu'elles sont incapables de contraction prolongée. De plus ces cellules sont excitables, automatiques et indépendantes, conductrices et contractiles. Le cœur a besoin d'une quantité importante de sang, ce sont les artères coronaires qui se chargent de l'apport sanguin du myocarde [1].



© Fondation des maladies du cœur du Canada

Figure 1.1 : Représentation schématique de l'anatomie du cœur.

1.2 La révolution cardiaque

On appelle révolution cardiaque une contraction du cœur constituée d'une phase de contraction (systole) à laquelle succède une phase de relâchement (diastole).

1.2.1. Diastole et Systole

Chacun des battements de cœur entraîne une séquence d'événements collectivement appelés la révolution cardiaque. Cette révolution cardiaque se matérialise en 5 étapes. Tout d'abord, comme tout cycle, on commence par une période de repos, la diastole. Ensuite vient la contraction des oreillettes qui va permettre au sang de remplir les ventricules : c'est la systole auriculaire. Les valves auriculo-ventriculaires (tricuspide et

mitrale) sont ouvertes car la pression des oreillettes est supérieure à celles des ventricules. Une fois le sang expulsé des oreillettes, les valves auriculo-ventriculaires entre les oreillettes et les ventricules se ferment. Ceci évite un reflux du sang vers les oreillettes. La fermeture de ces valves produit le son familier du premier battement du cœur. Par la suite, une contraction ventriculaire qui permettra la répartition du sang dans le corps humain. Cette période est composée de 2 étapes : la systole ventriculaire suivie d'une fermeture des valvules sigmoïdes. Les ventricules remplis de sang se contractent entraînant l'ouverture des valves sigmoïdes, aortiques et pulmonaires. Suivi de la fermeture des valvules sigmoïdes qui produit le deuxième bruit cardiaque plus aigu que le premier. Ainsi le sang ne reflue pas vers les ventricules. Pendant cette systole les oreillettes, maintenant relâchées, se remplissent de sang. Enfin, un début de diastole prend place. La diastole est la relaxation de toutes les parties du cœur, permettant le remplissage (passif) des ventricules, par les oreillettes droites et gauches et depuis les veines caves et pulmonaires. Ce remplissage prépare la révolution cardiaque suivante [2, 3].

1.3 Automatisme cardiaque

Il fait référence au fonctionnement autonome du cœur. Le muscle cardiaque est myogénique. Ceci veut dire qu'à la différence du muscle squelettique, qui a besoin d'un stimulus conscient ou réflexe, le muscle cardiaque s'excite lui-même. Les contractions rythmiques se produisent spontanément, bien que leur fréquence puisse être affectée par des influences nerveuses ou hormonales telles que l'exercice ou la perception du danger. Le battement de cœur est déclenché par un petit amas du muscle cardiaque appelé nœud sinusal. Il produit des impulsions électriques qui se répandent à travers le cœur et fait se contracter les différentes cavités du cœur dans le bon ordre [4].

Le battement cardiaque est sous le contrôle d'un pacemaker, sorte de groupement de cellules du myocarde qui constituent le nœud sinusal ou nœud sino-auriculaire, situé à même la paroi du haut de l'oreillette droite. Celui-ci donne naissance à une onde d'excitation qui parcourt rapidement le tissu musculaire des deux oreillettes, qui se

contractent d'abord lorsque les ventricules sont au repos. Puis l'onde gagne le second nœud, le nœud auriculo-ventriculaire situé plus bas entre les deux oreillettes, lequel transmet l'onde d'excitation aux parois des deux ventricules via le faisceau auriculo-ventriculaire puis les fibres de Purkinje qui sert de filtre en cas d'activité trop rapide des oreillettes. Les fibres de Purkinje sont des fibres musculaires spécialisées responsables de la contraction synchrone débutant à l'apex et se propageant vers la base du cœur. Ce système électrique explique la régularité du rythme cardiaque et assure la coordination des contractions cardiaques. Cette activité électrique peut être analysée par des électrodes posées à la surface de la peau qui constitue l'électrocardiogramme (ECG) [5].

2. Techniques

2.1 L'électrocardiographie (ECG)

L'électrocardiographie (ECG) est la représentation graphique du potentiel électrique qui commande l'activité musculaire du cœur. Étant une appréciation électrique de l'activité cardiaque, elle précède toujours l'activité musculaire du cœur. En effet, les influx qui se propagent dans le muscle cardiaque engendrent des courants électriques que les liquides organiques conduisent vers la surface du corps. En plaçant des électrodes de part et d'autre du cœur, on peut mesurer une activité électrique (la différence de potentiel des cellules myocardiques), l'enregistrer et étudier le fonctionnement du muscle cardiaque. Cet examen est fondamental en cardiologie : il permet de poser des diagnostics précis (troubles du rythme, infarctus, péricardite, etc.), sans entraîner la moindre contrainte pour le malade. C'est un examen rapide, indolore et dénué de tout danger. Son interprétation reste cependant complexe et requiert une certaine habitude du clinicien [6]. L'ECG peut constituer un marqueur indépendant d'affection myocardique; il peut refléter des atteintes anatomiques, et électrophysiologiques; il procure des informations qui s'avèrent essentielles pour le diagnostic et le traitement de diverses anomalies cardiaques; plus spécifiquement pour le diagnostic des arythmies [7].

2.1.1 Les dérivations

L'ECG à 12 dérivations a été standardisé par une convention internationale. Elles permettent d'avoir une idée tridimensionnelle de l'activité électrique du cœur.

Les 6 dérivés standards (DI, DII, DIII, VR, VL, VF) regardent le cœur dans un plan vertical. Les 6 dérivés précordiales (V1 à V6) regardent le cœur dans un plan horizontal. Chacune montre une image ECG différente. D'autres dérivations existent; elles sont faites dans certains cas pour affiner certains diagnostics [8].

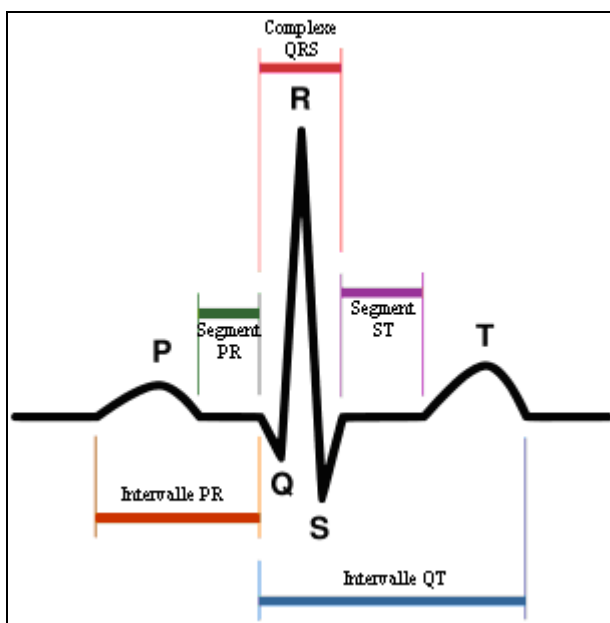
2.1.2 Ondes

Le tracé électrique comporte plusieurs accidents répétitifs appelés « ondes ». L'onde P correspond à la dépolarisation des oreillettes depuis le nœud sinusal vers le nœud auriculo-ventriculaire situé en bas à gauche. C'est l'onde qui précède le complexe QRS. Le complexe QRS, c'est 3 ondes accolées qui suivent l'onde P, et qui correspondent à la dépolarisation des ventricules. Par définition, l'onde Q est la première onde négative, l'onde R la première onde positive du complexe, et l'onde S la première onde négative après l'onde R. Toute onde supplémentaire, positive ou négative, sera appelée R', S', R'', ainsi de suite. L'onde T correspond au courant de repolarisation des ventricules. Cette onde succède au complexe QRS après retour à la ligne isoélectrique [6, 8]. Lors de la fibrillation ventriculaire, par exemple, les ondes P ne sont pas visibles et les QRS sont remplacés par une activité électrique anarchique, très polymorphe [8].

2.1.3 Intervalles

L'intervalle "QT" mesuré du début du QRS à la fin de l'onde T correspond à l'ensemble de la dépolarisation et de la repolarisation cardiaque. Son allongement voire son raccourcissement est lié dans certaines circonstances à l'apparition d'un trouble du rythme ventriculaire complexe nommé "torsades de pointes" potentiellement mortel. L'intervalle QRS représente la durée de la dépolarisation du muscle ventriculaire. L'intervalle R-R

représente la durée du rythme cardiaque ventriculaire. L'intervalle PR est le temps entre le début de P et le début du QRS. Il est le témoin du temps nécessaire à la transmission de l'influx électrique des oreillettes aux ventricules [6, 8].



Atkielski, 2007

Figure 1.2: Représentation schématique d'un rythme sinusal d'un cœur humain tel que vu sur un électrocardiogramme.

Un ECG normal n'élimine en aucun cas une maladie du cœur. Un ECG anormal peut être également tout à fait anodin. Le médecin ne se sert de cet examen que comme un outil parmi d'autres, permettant d'apporter des arguments pour étayer son diagnostic [8].

En cas d'anomalie, le tracé doit être idéalement comparé avec un ECG ancien chez le même patient : une repolarisation ventriculaire anormale n'a pas du tout la même signification si elle existe depuis plusieurs années que si elle est récente [8].

2.2 Holter cardiaque

Il s'agit d'un dispositif portable permettant l'enregistrement d'une ou plusieurs dérivations de l'ECG pendant plusieurs heures, car malgré les quantités de renseignements qu'un

ECG peut fournir, il ne reflète que l'activité électrique instantanée recueillie pendant les quelques secondes d'enregistrement. Dans la plupart des cas, cela suffit pour faire un diagnostic et aider à l'élaboration d'un traitement. Mais certains symptômes épisodiques (palpitations, lipothymies, douleurs, ...) ont très peu de chances de se produire au moment de l'enregistrement, privant ainsi de la possibilité de rattacher ces symptômes à un éventuel trouble du rythme cardiaque. Le diagnostic de ces symptômes paraissant alors bien compromis, un américain s'appelant Holter a tenté de résoudre le problème en concevant un système d'enregistrement ECG continu portable. Après bien des perfectionnements et une grande miniaturisation liée aux progrès de l'électronique, le dispositif permettant « l'enregistrement Holter » (ou tout simplement « le Holter ») est maintenant d'utilisation courante. L'appareil, qui se présente sous un aspect le faisant ressembler à un baladeur audio que le patient porte en bandoulière ou en ceinture, est relié par un câble à 5 électrodes collées sur la poitrine du patient. Il enregistre en permanence l'ECG pendant 24 ou 48 heures. D'une façon générale, les indications courantes du Holter sont toutes les symptomatologies (malaises, syncopes, palpitations, sensations de tachycardie, etc.) pouvant être provoquées par un trouble du rythme cardiaque, pour lesquelles aucun ECG contemporain de ces symptômes n'a pu être enregistré et qui reviennent avec une fréquence suffisante pour avoir des chances de survenir pendant 24 ou 48 heures d'enregistrement [9].

3. Maladies du myocarde

Les pathologies atteignant le myocarde sont appelées cardiomyopathies. Elles correspondent à un groupe hétérogène de maladies responsable d'un dysfonctionnement de ce muscle. Les cardiomyopathies peuvent avoir une origine extrinsèque (secondaire à une pathologie extérieure au muscle cardiaque) ou intrinsèque (par atteinte primitive du muscle cardiaque). Les sujets atteints risquent l'insuffisance cardiaque, les troubles du rythme et la mort subite [10].

La plus récente classification des cardiomyopathies les définit comme des maladies du myocarde associées à une dysfonction ventriculaire [11]. Cette nomenclature permet donc de distinguer les cardiomyopathies primitives de deux types, idiopathiques et familiales, qu'elles soient dilatées, hypertrophiques, restrictives, et les cardiopathies secondaires à une cause infectieuse, endocrinienne, métabolique, toxique ou infiltrative.

3.1 Les cardiomyopathies d'origine extrinsèque, ou secondaire

Dans ce groupe de cardiomyopathies, la pathologie responsable de l'atteinte musculaire cardiaque se situe en dehors du myocarde. La plus connue est la cardiomyopathie d'origine ischémique (cardiopathie ischémique). L'atteinte musculaire cardiaque peut également être liée à une cardiopathie congénitale, une cardiopathie d'origine hypertensive ou d'origine valvulaire, une maladie métabolique (hémochromatose, amylose, diabète, hyperthyroïdie), une maladie auto-immune (lupus, sclérodermie, périartérite noueuse), au décours d'une myocardite, une prise de toxiques (alcool, drogue, chimiothérapie anticancéreuse) ou survenir dans le cadre d'une malnutrition [10].

3.2 Les cardiomyopathies d'origine intrinsèque, ou primitive

Une cardiomyopathie intrinsèque est liée à une atteinte directe du muscle cardiaque, aucune cause externe n'est identifiée. Pour pouvoir parler de cardiomyopathie intrinsèque, il faut que toute atteinte significative des artères coronaire soit exclue [10].

3.3 Groupes de cardiomyopathies

On distingue 5 groupes de cardiomyopathies. La cardiomyopathie hypertrophique (HCM) est caractérisée par une hypertrophie totale ou partielle du myocarde sans dilatation de la cavité faisant plus ou moins obstacle au libre passage du sang durant l'éjection systolique. C'est une affection génétique liée à de multiples mutations de gènes codant les protéines sarcomériques (unité de base des fibres musculaires). La cardiomyopathie restrictive est caractérisée par une gêne au remplissage ventriculaire du fait d'anomalies de la compliance cardiaque (perte de souplesse) par atteinte de l'endocarde, du sous endocarde ou du myocarde. La cardiomyopathie dilatée (DCM) est caractérisée par une dilatation bi-ventriculaire (surtout le gauche) avec une importante altération de la fonction cardiaque. La cardiomyopathie arythmogène du ventricule droit (ARVC/D) est caractérisée par une atrophie des myofibrilles du ventricule droit remplacée par un tissu fibro-adipeux à l'origine d'arythmies ventriculaires graves. Finalement le groupe de cardiomyopathies non-classés incluent tous les cas ne rentrant dans aucun autre groupe. Elle peut présenter par exemple, la fibroélastose, un myocarde non-compacté, une dysfonction systolique avec une dilatation faible, ou une atteinte mitochondriale [10].

3.3.1 Prise en charge

Le traitement dépend du type de cardiomyopathie. Le but du traitement est de soulager les symptômes. Il inclut un traitement médical et parfois l'implantation d'un stimulateur cardiaque. Certains sujets nécessiteront une transplantation cardiaque [10].

4. Cardiomyopathie arythmogène du ventricule droit

La cardiomyopathie (ou la dysplasie) arythmogène du ventricule (ARVC/D) est une pathologie où le tissu normal du myocarde est remplacé par du tissu fibro-adipeux [12]. Ce désordre implique généralement le ventricule droit, mais le ventricule gauche ainsi

que le septum peuvent aussi être affectés [13]. Elle a été décrite pour la première fois en 1974, lors de l'étude macroscopique péroopératoire et histologique de fragments de ventricule droit de patients opérés pour des tachycardies ventriculaires rebelles jusque-là considérées comme idiopathique [14]. Cependant, c'est en 1982 qu'on en fait une entité particulière, en y recherchant les caractéristiques cliniques et paracliniques [15]. L'incidence d'ARVC/D est difficile à établir car le processus pathologique peut être totalement asymptomatique chez les plus jeunes avec pour première manifestation un épisode de mort subite. Il a été démontré qu'ARVC/D avait une incidence de 6 pour 10 000 personnes dans certaines populations. Chez les populations méditerranéennes et du sud des États-Unis, l'incidence s'élève à plus de 44 personnes pour 10 000 personnes [16]. ARVC/D contribue à 3-4 % de mort chez les athlètes, elle apparaît comme étant une des causes les plus communes de mort subite plus spécialement chez les athlètes italiens. Finalement, ARVC/D est responsable de 5 % de mort subite chez les personnes de moins de 65 ans [17].

4.1 Pathophysiologie

ARVC/D est caractérisée par la perte progressive des cardiomyocytes et son remplacement par du tissu fibreux et adipeux. Cette transformation des tissus est spécialement localisée entre la face antérieure de l'infundibulum pulmonaire, l'apex du ventricule droit, et la paroi inférieure ou postérodiaphragmatique du ventricule droit. Cette région est aussi appelée le triangle de dysplasie [15, 18]. La dysplasie dans cette région mène habituellement à des dilatations ou des anévrismes avec un mouvement systolique paradoxal, c'est à dire une expansion suite à la systole (au lieu d'une contraction). Au niveau cellulaire, il y a un amincissement de la paroi ventriculaire droite (sans contact entre l'épicarde et l'endocarde). Le ventricule gauche et le septum sont habituellement épargnés par la transformation fibro-adipeuse, même s'ils sont impliqués dans un vaste nombre de cas sévères [13]. Le terme de dysplasie biventriculaire est alors utilisé [19]. De plus, le système spécialisé de conduction du cœur est aussi normalement épargné. La présence d'arythmie et de caractéristiques spécifiques sur l'ECG peut être expliquée par la dissémination des myocytes électriquement conducteurs qui peuvent

mener à des manifestations de tachycardie au fur et à mesure que la dysplasie progresse [18, 20].

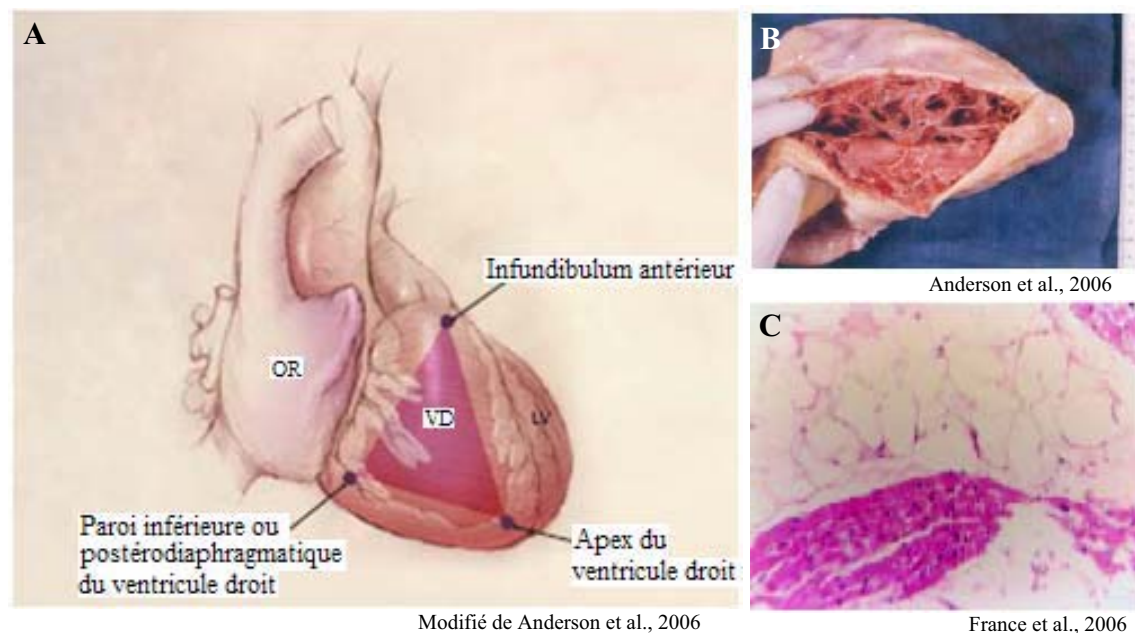


Figure 1.3 : Ventricule droit atteint d'ARVC/D : A- Représentation schématique de la région du triangle de dysplasie. B- Représentation anatomique d'un ventricule droit envahi par du tissu adipeux C- Représentation histologique d'une paroi ventriculaire droite. Ce tissu appartient à une femme de 48 ans atteinte d'ARVC/D. On voit bien ici les cardiomyocytes entouré abondamment de tissus adipeux.

Plusieurs auteurs ont démontré qu'ARVC/D démontre une forte association familiale chez plus de 30 à 50% des patients [15, 21-26]. Chez les membres de la famille atteints, certains sont symptomatiques, d'autres asymptomatiques avec différent degré d'atteinte au myocarde. ARVC/D est une pathologie avec une étiologie génétique ayant un patron de transmission majoritairement autosomal dominant avec pénétrance incomplète et expression variable [26]. Une forme autosomique récessive de la maladie associée à des problèmes de peau (kératose palmo-plantaire) et des cheveux laineux a été décrite et nommé la maladie de Naxos [27].

4.2 Pathobiologie

Plusieurs théories ont tenté d'expliquer l'étiologie d'ARVC/D.

4.2.1 Théorie Disontogénétique

L'absence du myocarde est considérée être la conséquence d'une aplasie ou d'une hypoplasie congénitale de la paroi ventriculaire droite [28]. Si l'on se fie à cette théorie, la maladie devrait être considérée comme un défaut cardiaque structurel grave présent à la naissance et donc, être parmi la liste des maladies cardiaques congénitales [29]. L'utilisation du terme "dysplasie", qui signifie mauvais développement est en accord avec ce point de vue.

4.2.2 Théorie Dégénérative/Dystrophique

La perte du myocarde est considérée comme la conséquence d'une mort myocytaire progressive due à un certain défaut métabolique ou ultrastructurel. La présentation familiale suggère une maladie d'origine génétique à transmission autosomique dominante avec une expression variable de la pénétrance [21, 25, 26, 30-35].

4.2.3 Théorie Inflammatoire

Le remplacement par du tissu fibro-adipeux est vu comme un processus de cicatrisation dans l'emplacement d'une myocardite chronique [35-38]. La disparition du myocarde du ventricule droit peut être une conséquence d'un tort nécrotique inflammatoire suivi par une réparation fibro-adipeuse. Ainsi, une réaction infectieuse et/ou myocardiale immunitaire pourrait intervenir dans l'étiologie et la pathogénèse de la maladie [38]. Cette théorie n'est pas en opposition avec la présentation familiale, puisqu'une prédisposition génétique aux infections virales déclenchant une réaction immunitaire ne peut être exclue. Il est significatif que certaines expérimentations de myocardites soient exclusivement limitées au ventricule droit. En fait, une péromyocardite sélective du ventricule droit a été obtenue chez des souris après une infection au coxsackievirus, et dans des stades avancés, menant au développement d'anévrisme ventriculaire [39]. Les facteurs génétiques peuvent jouer un rôle, non seulement dans la susceptibilité aux

infections, mais aussi dans le site d'implication cardiaque, le myoépicaarde du ventricule droit.

4.3 Diagnostique et constatations cliniques

Les patients atteints d'ARVC/D sont habituellement jeune ou d'âge moyen (33 ans plus ou moins 14), et la majorité des patients sont des hommes (3:1) [13, 40]. Il a même été rapporté dans une étude une prédominance mâle à 80% [18]. À cause de la nature progressive de la maladie, les patients peuvent présenter un large éventail de symptômes. Les symptômes les plus communs étant les palpitations cardiaques, la fatigue et la syncope, certains patients peuvent avoir des symptômes non-spécifiques tels que de la douleur abdominale ainsi que de la confusion mentale. Dans certains cas, l'arrêt cardiaque qui suit un effort physique, tel que les sports, peut être la première apparition du problème [41, 42].

Le dépistage d'ARVC/D commence avec une recherche personnelle et approfondie de l'histoire familiale, idéalement chez les proches du premier et second degré. Une histoire familiale de palpitations, spécialement chez les personnes jeunes, ou une histoire familiale de mort subite à un jeune âge devrait augmenter les soupçons pour ARVC/D.

Les examens médicaux sont normaux chez 50% des patients avec ARVC/D. Un indice important pour le diagnostique de la maladie, est, s'il est présent, un large dédoublement du deuxième son (S2) du cœur [40]. Un troisième et même un quatrième son (S3 et S4) peuvent être notés. Plus rarement, un murmure peut être reconnu. Si le ventricule droit est très dilaté, une asymétrie sur la paroi de la poitrine peut être vue.

4.3.1 Caractéristiques sur l'électrocardiogramme

Le diagnostique de ARVC/D est souvent fait suite à une consultation pour tachycardie chez un adulte en santé. De 50 à 90% des patients ARVC/D auront des caractéristiques sur un ECG au repos [40, 42, 43]. Ces caractéristiques incluent une inversion de l'onde T dans les dérivation V1 à V6, une onde epsilon, ou une dérivation V1 avec un patron de bloc de branche gauche ont été rapportées [40, 44]. Une onde epsilon est une petite

déviations au delà du complexe QRS. Elles sont mieux visualisées sur un ECG dans les dérivations V1 à V3. Tous les potentiels dans les dérivations V1 à V3 qui excèdent la durée du complexe QRS de la dérivation V6 par plus de 25 millisecondes devrait être considérée comme une onde epsilon [18].

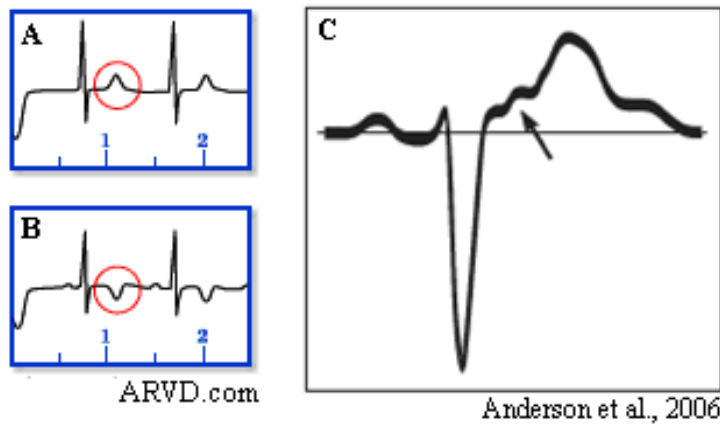


Figure 1.4 : Représentation schématique d'une partie d'un électrocardiogramme : A- ECG normal avec onde T positive B- ECG anormal chez un patient ARVC avec onde T inversé C- Onde epsilon

4.3.2 Critères diagnostiques

Actuellement, un diagnostic est établi sur la base des critères déterminés en 1994 par le groupe de travail sur les maladies myocardiques et péricardiques de la Société européenne de cardiologie et du Conseil scientifique sur les cardiomyopathies de la Société et de la Fédération internationale de Cardiologie (TFC) [45-47]. Ces critères sont indiqués dans le tableau 1.1. On établit un diagnostic d'ARVC/D lorsqu'un patient répond à 2 critères majeurs ou à un critère majeur et à 2 critères mineurs, ou à 4 critères mineurs. Même si ces critères sont spécifiques, ils manquent en sensibilité et n'ont jamais été validé, en partie parce qu'il n'existe pas de définitions simples qui permettent un diagnostic certain [16, 45, 48].

Tableau 1.1: Liste des critères du groupe de travail pour diagnostiquer ARVC/D: On établit un diagnostic d'ARVC/D lorsqu'un patient répond à 2 critères majeurs ou à un critère majeur et à 2 critères mineurs, ou à 4 critères mineurs.

	Majeurs	Mineurs
Antécédents familiaux	<ul style="list-style-type: none"> • Maladie familiale à l'autopsie 	<ul style="list-style-type: none"> • MCS chez des patients âgés de < 35 ans que l'on soupçonne être due à la CVDA • Antécédents familiaux
Modifications	<ul style="list-style-type: none"> • Ondes epsilon ÉCG 	<ul style="list-style-type: none"> • Potentiels tardifs sur l'ÉCG HA • Inversion des ondes T (V2-3)
Arrhythmies		<ul style="list-style-type: none"> • TV-BBG • BVP fréquents (> 1000/24 h) lors d'une surveillance Holter
Dysfonction ventriculaire	<ul style="list-style-type: none"> • Dilatation sévère et réduction de la FÉ du VD (sans atteinte ou faible atteinte du VG) 	<ul style="list-style-type: none"> • Dysfonction globale légère du VD/réduction de la FÉ • Dilatation segmentaire du VD/hypocinésie
Caractérisation tissulaire	<ul style="list-style-type: none"> • Remplacement du myocarde par du tissu fibrograisseux visible sur un échantillon biopsique de l'endomyocarde) 	

Sheldon et al., 2006

MCS = mort cardiaque subite ; ÉCG HA = électrocardiographie à haute amplification ; TV BBG = tachycardie ventriculaire au niveau du bloc de branche gauche ; BVP = battements ventriculaires prématurés ; VD = ventricule droit ; VG = ventricule gauche ; FÉ = fraction d'éjection

Une fois qu'ARVC/D est soupçonné, une consultation hâtive avec un cardiologue est recommandée pour que des tests puissent être faits pour exclure tout autre diagnostic [11, 49]. Les premiers tests effectués sont souvent non-invasifs, c'est-à-dire qu'ils sont à risque très faible pour le patient. Ceux-ci comprennent : l'ECG traditionnel et l'ECG à haute amplification, la surveillance holter, les tests d'exercices, la radiographie de la poitrine et l'imagerie par résonance magnétique nucléaire du cœur. Si le diagnostic n'est pas possible, en second lieu, les tests invasifs seront considérés. Ils incluent l'angiographie du ventricule droit, l'échocardiographie cardiaque, et les biopsies endomyocardiales.

Les résultats de surveillance holter et des tests d'exercices sont souvent normaux. Chez les cas avancés d'ARVC/D, les tests d'exercices induisent une tachycardie ventriculaire [40]. Les radiographies de la poitrine sont aussi souvent normales sauf si la dilatation du ventricule est présente.

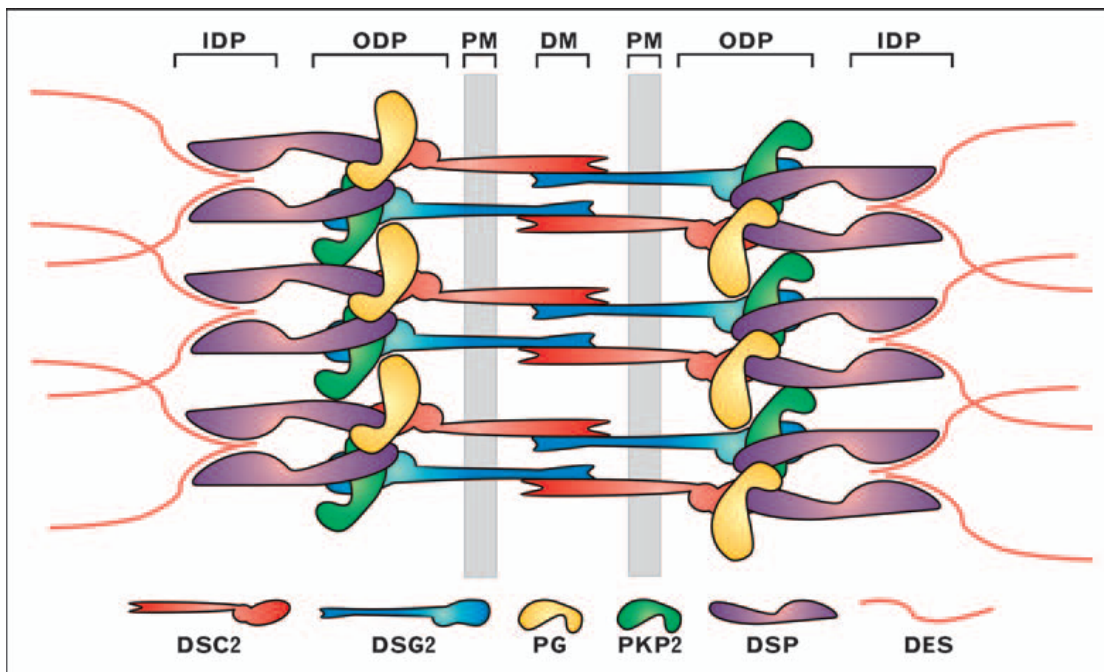
Il est encore controversé de dire quel type de test d'imagerie est le meilleur pour diagnostiquer ARVC/D [50]. L'angiographie du ventricule droit peut identifier les anévrismes ventriculaire et les zones de dyskinésie dans le triangle de dysplasie, mais requière des méthodes invasives [51, 52]. L'échocardiographie de contraste et l'imagerie à résonance magnétique du cœur fournissent une méthode non-invasive qui permet une localisation des changements structuraux et de dysfonctions régionales, quoique l'identification de changement fibro-adipeux intramyocardial soit difficile [53-56]. Les biopsies endomyocardiales ont été une des méthodes préférées pour le diagnostic d'ARVC/D avec une spécificité de diagnostic de 92%. Sa sensibilité reste basse (moins de 20%) parce que l'échantillon du tissu prélevé est pris du septum, où le risque de perforation est faible, mais où la probabilité de dysplasie est la plus faible [57].

4.4 Génétique

La connaissance des gènes impliqués dans le patron de transmission autosomique dominant sous-jacent à ARVC/D fut très limitée jusqu'à la moitié de l'année 2004. Seulement 3 gènes et 6 loci avait été identifiés: le gène du récepteur de la ryanodine (RYR2), du facteur de croissance bêta-3 (TGF- β 3), et de la desmoplakine (DSP) [58-66]. Parallèlement, il fut trouvé en 2000 une délétion de deux paires de bases homozygote dans le gène de la plakoglobine (JUP ou PG) pour la forme récessive d'ARVC/D, aussi appelée la maladie de Naxos. Elle est associée à une kératose palmo-plantaire (hyperkératose des paumes et des plantes) et des cheveux laineux [67]. À la fin de 2004, plusieurs mutations furent trouvées dans le gène de la plakophiline-2 (PKP2) qui code, comme la desmoplakine (DSP), pour une protéine des desmosomes. Les scientifiques purent alors éclaircir un peu plus la génétique d'ARVC/D en l'associant à une anomalie probable des desmosomes [68]. D'autres mutations furent identifiées plus tard dans d'autres protéines des desmosomes. Outre les nouvelles mutations dans les gènes déjà connus, des mutations dans les gènes de la desmocolline-2 (DSC2), et de la desmoglérine-2 (DSG2) ont été trouvées [69-74].

4.4.1 Desmosomes

Les desmosomes font partie de la famille des protéines des disques intercalaires, auxquelles fait aussi partie les jonctions adherens, et les jonctions gap. Contrairement aux jonctions gap, les desmosomes et les jonctions adherens sont responsables du couplage mécanique des myocytes cardiaques et permettent la connexion entre cellules aux sarcomères et aux filaments intermédiaires. Plus spécifiquement, les jonctions adherens sont surtout impliquées dans la force de transmission et sont liées au réseau de filaments d'actine, alors que les desmosomes protègent les autres jonctions du stress mécanique, et sont liés aux filaments intermédiaires, surtout la desmine (DES). Les jonctions gap sont responsables quant à elles du couplage électrique aux extrémités bipolaires des myocytes [75-78].



Van Tintelen et al. 2007

Figure 1.5 : Représentation schématique de l'organisation relative des composantes majeures des desmosomes : La membrane plasmatique (PM) lie la desmocolline 2 (DSC2) et la desmoglérine 2 (DSG2) qui interagissent ensemble dans le milieu dense (DM) via leur domaine extra-cellulaire entre les cellules adjacentes. Leur domaine cytoplasmique interagit avec la plakoglobine (PG), et la plakophiline 2 (PKP2) dans la plaque extérieure dense (ODP). De plus, le domaine cytoplasmique de celles-ci interagit avec l'extrémité N-terminale de la desmoplakine (DSP), toujours dans la plaque extérieure dense. Finalement, le côté C-terminal de DSP lie les filaments intermédiaires, majoritairement la desmine (DES) dans la plaque intérieure dense (IDP)

Les desmosomes sont des structures multiprotéiques dans la membrane cellulaire qui consistent en trois familles de protéines. La première est la famille des protéines transmembranaires, que l'on appelle les cadhérines. Elles sont regroupées sur le chromosome 18q12.1: en font partie la desmoglérine et la desmocolline [79, 80]. Leur domaine extracellulaire lie directement leurs homologues sur les cellules voisines. À part leur rôle dans l'adhésion cellulaire, les cadhérines pourraient fonctionner comme des régulateurs de morphogénèse [79]. La portion intracellulaire des cadhérines interagit avec la seconde famille que l'on appelle protéines armadillo dont fait partie la plakoglobine et la plakophiline. La plakoglobine fait partie aussi des jonctions adhérentes, avec son homologue, la β -caténine. La β -caténine n'est pas un constituant des desmosomes. La β -caténine a un rôle additionnel de régulateur de transcription, et un rôle semblable a été proposé pour la plakoglobine [79]. La plakophiline quant à elle est située dans le noyau, mais sa fonction reste pour le moment spéculative [80]. Et finalement, la famille des plakines regroupe la desmoplakine et la plectine. Le domaine N-terminal de la desmoplakine possède des sites de liaison avec la plakoglobine et la plakophiline. Son domaine C-terminal est lié à la desmine [79, 80]. La plectine est aussi présente dans les desmosomes. Alors que son absence ne semble pas altérer l'ultrastructure des desmosomes, il semble qu'elle contribue de façon significative à la force mécanique des cellules [81]. Donc en résumé, à l'intérieur des desmosomes, les cadhérines interagissent avec les protéines armadillo, qui elles, sont connectées aux filaments intermédiaires, principalement la desmine, ce qui fournit la force mécanique au tissu du myocarde.

Les desmosomes mutants sont probablement capables d'assurer l'intégrité des tissus cardiaques, sauf peut-être la région mince du ventricule droit, soit celle du triangle de dysplasie, qui est la plus vulnérable [82].

Même si les desmosomes sont des protéines largement exprimées, des mutations dans ses composantes spécifiques mènent exclusivement à des dysfonctions myocardiales seulement parce que certaines d'entre elles sont spécifiquement exprimées dans le tissu myocardial. Quelques protéines desmosomales sont présentes dans d'autres tissus tels que la plakoglobine ou la desmoplakine. Ceci est démontré par le fait que des mutations dans ces protéines causent non seulement une cardiomyopathie, mais aussi des anomalies de peau et de cheveux [82].

4.5 Mécanismes

Plusieurs mécanismes ont été proposés qui pourraient expliquer le développement d'ARVC/D. Il est couramment accepté que les mutations dans les desmosomes exercent des effets pathogènes à plusieurs niveaux. Selon Van Tintelen, Hofstra, Wiesfeld (2007); 1) par leur composition et leurs fonctions, 2) via les disques intercalaires, 3) via la voie de Wnt/ β -caténine [82]. Dans tous ces cas, une défectuosité dans les desmosomes semble prédisposer à un endommagement des tissus sous des conditions de stress mécanique, menant à une perturbation et une dégénération subséquente des cardiomyocytes, et leur remplacement par du tissu fibro-adipeux [15]. Ceci peut mener évidemment à des variations des propriétés de conduction des myocytes cardiaques, ayant pour résultat l'amorce de tachycardie ventriculaire. Il a été observé que la plakoglobine échoue à rester localisée dans les disques intercalaires chez les patients avec des mutations dans la plakoglobine. De plus, des mutations dans la plakophiline et la desmoplakine auraient le même effet sur la localisation de la plakoglobine puisque les liens entre protéines desmosomales seraient perturbés. Ceci suggère un mécanisme commun dans la pathologie d'ARVC/D [76, 77, 83].

4.5.1 Effets pathogènes au niveau des desmosomes

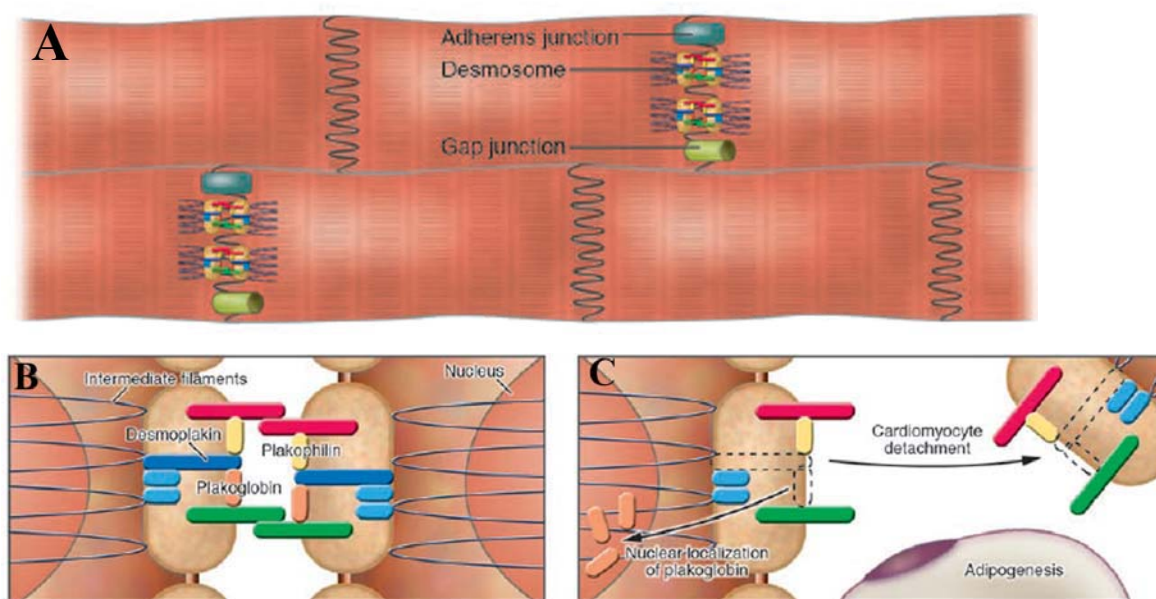
Les mutations dans les gènes codant pour les composantes de ce complexe peuvent mener à 1) une haploinsuffisance et donc une incorporation insuffisante de protéine, 2) une absence d'interactions protéine-protéine essentielles, 3) une incorporation incorrecte de la protéine mutante dans les desmosomes ; tout cela ayant pour résultat une formation perturbée ou un nombre diminué de desmosomes fonctionnels. Ceci a été démontré dans une étude de Basso (2006) qui démontre une baisse du nombre de desmosomes, et une augmentation de la longueur des desmosomes dans les tissus myocardiaux des porteurs de mutations. Le stress mécanique induit la perturbation de ces structures desmosomales ce qui résulte en un contact mécanique réduit et un détachement des cardiomyocytes. Cet effet peut être direct (contacts desmosomaux réduits), indirect (contacts réduits des jonctions gap et adhérents), ou les deux [75].

4.5.2 Effets pathogènes au niveau des disques intercalaires

Les effets indirects de la perturbation des desmosomes peuvent être causés par leurs rôles dans la protection des autres jonctions du stress mécanique et dans l'organisation structurelle des disques intercalaires [84]. Toujours dans l'étude de Basso (2006), il a été démontré une présence anormale de petites jonctions et un élargissement des jonctions gap intercellulaires en l'absence de circonvolution dans les tissus des patients porteurs de la mutation. Une défectuosité des fonctions des desmosomes peut mener à une perturbation des jonctions adherens et conséquemment à une perte de contact cellule-cellule, et à la mort des cardiomyocytes [75]. De plus, la déstabilisation des complexes d'adhésion cellulaires peut altérer la cinétique du flux des jonctions gap, résultant en une conduction hétérogène, une contribution potentielle à l'arythmogénèse dans ARVC/D [76, 77, 85].

4.5.3 Effets pathogènes au niveau de la voie de la Wnt/ β -caténine

Il a été récemment découvert que les desmosomes ou ses composantes participent à un réseau de voies de signalisation intercellulaires via la cascade de signalisation de Wnt/ β -caténine. Wnt (contraction des gènes Wg et Int) est impliqué dans une variété de processus de développement, incluant la prolifération et la différenciation cellulaire, et le développement des tissus et des organes. Plusieurs études ont constaté que la dysfonction des desmosomes a pour résultat une délocalisation et une translocation nucléaire de la plakoglobine [86]. Ceci a pour résultat une compétition entre la plakoglobine (aussi appelé γ -caténine) et la β -caténine qui mène à un effet négatif en cascade de la voie de Wnt/ β -caténine via le facteur de transcription TCF/LEF. Le résultat final de cette inhibition est un changement du myocyte en adipocyte [84, 87]. Notamment, la plakophiline est aussi exprimé ou localisé dans le noyau, cependant son rôle nucléaire est toujours inconnu [88]. Elle peut être néanmoins impliquée dans la régulation transcriptionnelle ou dans la régulation de l'activité de la voie de signalisation Wnt/ β -caténine [88, 89].



Modifié de McRae et al., 2006

Figure 1.6 : Représentation schématique des effets pathogènes de la voie de la Wnt/β-caténine : **A-** Représentation schématique des disques intercalaires dans le contexte des myocytes. **B-** Autre représentation schématique des desmosomes. **C-** La desmoplakine altérée : la plakoglobine est localisé dans le noyau. Ceci a pour conséquence la suppression de la voie Wnt/β-caténine, et un effet négatif en cascade : adipogénèse, fibrogénèse, apoptose des myocytes. Apparition d'arythmies ventriculaires et apparition de dysfonction contractile.

En résumé, les pathogénèses d'ARVC/D convergent en un mécanisme final commun où la délocalisation de la plakoglobine est l'événement clé. Les mutations dans les desmosomes mènent à un mécanisme de couplage défectueux ou à une perturbation des desmosomes suivi par un remodelage des disques intercalaires. Ceci a pour résultat en une localisation nucléaire de la plakoglobine, qui supprime la voie de la Wnt/β-caténine. Ces processus mènent ensemble à la mort des cardiomyocytes, au remplacement en tissus fibro-adipeux, à une conduction lente, et donc facilitent les arythmies ré-entrantes ventriculaires [15]. De façon importante, le remodelage des jonctions gap peut être considéré comme étant une voie intermédiaire ou alternative à une conduction intramyocardiale lente, augmentant le risque d'arythmies ventriculaires [77].

4.6 Aera composita

Récemment, une nouvelle jonction cellulaire prédominante dans les disques intercalaires a été décrite. Il s'agit de l'aera composita; une jonction "hybride" qui est caractérisée par une complexité moléculaire élevée inhabituelle et une association des molécules de deux catégories: les desmosomes et les jonctions adherens [90]. Les jonctions adhérentes intercellulaires (caractérisé dans le cytoplasme par des plaques denses) sont traditionnellement divisées en deux catégories; les desmosomes et les jonctions adherens. La majorité des aera composita seraient similaires aux jonctions adherens, mais ayant plusieurs protéines desmosomales en addition des protéines typiques des adherens [90, 91]. Chez Goossens (2007), une interaction entre la plakophiline et la α -T-caténine fut observée dans ce nouveau type de jonction. Cette nouvelle liaison pourrait renforcer l'adhésion cellulaire dans les cellules du muscle cardiaque via l' aera composita, et pourrait, toujours selon Goossen (2007), expliquer les effets dévastateurs des mutations dans la plakophiline sur la stabilité des jonctions cellulaires dans les disques intercalaires et menant à des désordres du myocarde [92].

4.7 Connexine 43

Une étude a démontré que la perte de plakophiline mène à une redistribution de la connexine 43 (cx43), protéine principale des jonctions gap, dans la cellule, ainsi qu'une perte des plaques de jonctions gap [93]. Ce même groupe suggère que la plakophiline pourrait réguler et coordonner la formation et l'interaction des complexes jonctionnels non seulement mécaniques, mais aussi électriques. La perturbation des jonctions gap, supposée assurer l'intégrité du couplage électrique aux extrémités bipolaires des myocytes, pourrait expliquer les problèmes de conductivité cardiaque des patients atteints d'ARVC/D.

4.8 Théorie inflammatoire

ARVC est caractérisé par une disparition partielle ou totale du myocarde du ventricule droit. Que l'origine de cette perte du myocarde soit congénitale ou acquise a toujours été une source de débat [28]. Une autre hypothèse mécanistique d'ARVC/D fut avancée, elle concerne surtout les cas sporadiques (non-familiaux) d'ARVC/D. La théorie inflammatoire présuppose des mécanismes d'infection, de toxicité et immunitaires [28, 35, 37, 38]. L'infiltration inflammatoire est observée dans le 2/3 des cas (diffuse ou clairsemée) [28, 32, 94, 95]. Par conséquent, l'infiltration fibro-adipeuse est considérée comme un phénomène de cicatrisation (dans le cadre de la myocardite chronique).

4.8.1 Rôle des virus

Les entérovirus ont été les premiers virus à être investigués en 1980 sur un modèle expérimental de souris infectées au coxsackievirus B3. Ces souris développaient une mort cellulaire sélective du myocarde du ventricule droit. Une augmentation de l'infiltration de cellules mononucléaires et formation d'anévrisme [39]. Par la suite, plusieurs groupes ont cherché la présence de génome d'entérovirus dans le myocarde chez des patients ARVC/D suivant l'hypothèse selon laquelle ARVC/D serait une conséquence d'une myocardite virale sur des tissus provenant de biopsies endomyocardiales. En 1995, Kearney étudia la présence de molécules entérovirales chez deux patients atteints d'ARVC/D. Aucun d'entre eux ne révéla la présence de celles-ci [96]. Par la suite, en 1997, Heim trouva la présence de molécules entérovirales chez tous les patients investigués (n=3), et par la suite dans la même année, ce même groupe identifia encore la présence de molécules entérovirales chez 1 des deux patients étudiés [97, 98]. Cependant, dans cette étude, selon les auteurs, la présence d'anticorps contre plusieurs coxsackievirus chez le patient peut être un faux positif [98]. En 1998, Grumbach a détecté l'entérovirus de type coxsackievirus B3 chez 37.5% des patients (n=8) [99]. En 2000, Calabrese étudia 20 patients avec ARVC/D à l'aide de deux paires d'amorces PCR spécifiques à une région commune de la plupart des entérovirus. Aucune molécule entérovirale ne fut détectée chez ces patients [100]. Ce groupe justifie leurs résultats négatifs par le fait que

le taux de cas ARVC/D d'origine familiale était élevé, et que les recherches se concentraient uniquement sur le génome entéroviral [101]. De toutes ces études, les contrôles positifs étaient des patients atteints de myocardite entérovirale (souvent coxsackievirus B3). Les résultats controversés rapportés de ces études sont probablement dûs aux différentes façons de sélectionner les patients [101]. Plus récemment, Bowles (2002) a décrit la présence de virus cardiotropiques (à ADN et à ARN) chez 7 des 12 patients très jeunes avec ARVC/D sporadique, c'est-à-dire 5 entérovirus et 2 adénovirus [102].

Un rôle de l'immunité humorale a été exclu par des essais d'immunofluorescence indirecte à l'aide d'anticorps pour les organes circulants, cardiaque spécifique et avec réaction croisée avec le muscle squelettique. La fréquence des anticorps des 2 types était similaire entre les patients normaux versus ARVC/D, de la forme familiale ou non [42]. L'immunité par médiation cellulaire semble plus pertinente et plusieurs recherches sont requises pour clarifier ces considérations [101].

4.8.2 Rôle de l'apoptose

Il a été proposé que le mécanisme expliquant la mort progressive des myocytes dans ARVC/D puisse être représenté par la mort cellulaire programmée que l'on appelle l'apoptose [103, 104]. Les évidences supportant cette hypothèse ont été collectées par des autopsies et des biopsies. Les mécanismes biochimiques impliqués dans ce taux augmentant d'apoptose observée, sont très peu compris. Une surexpression de la caspase CPP32, une protéase à cystéine requise pour l'apoptose, a été observée dans le ventricule droit des patients ARVC/D [103]. De façon intéressante, la présence d'apoptose se note dans la phase précoce et aiguë des symptômes de la maladie [104]. Les complications physiologiques post-natales du myocarde du ventricule droit résultent principalement de l'apoptose [105]. De même, l'excès anormal de l'apoptose dans ARVC/D peut mener à une disparition progressive du myocarde suivi d'un remplacement fibro-adipeux.

Les théories inflammatoire versus dystrophique ne sont pas nécessairement opposées. Premièrement, l'inflammation peut être une conséquence directe du découplage des

myocytes cardiaques suivi d'apoptose, suite à l'exposition des jonctions cellulaires au stress. L'inflammation accompagne ainsi d'emblée ARVC/D [106]. De plus, une altération génétique peut prédisposer le patient à une infection virale; selon ce point de vue, une infection virale peut être considérée comme un facteur étiologique clé pour le développement des changements pathologiques d'ARVC/D i.e. perte progressive des myocytes par un mécanisme d'apoptose [101]. L'apoptose est impliquée dans la pathogénèse de nombreuses infections virales dans un double mode: les virus ayant une fonction d'induction et de répression d'apoptose dans leur cycle de réplication dans les cellules hôtes [107]. Il reste à savoir si l'apoptose des myocytes est directement associée avec les virus ou si elle est médiée par l'inflammation.

Le rôle de ces virus reste inconnu dans ARVC/D, particulièrement à savoir si ceux-ci contribuent à la maladie ou si c'est le myocarde malade qui est plus enclin à être infecté par ces virus [101].

4.9 Relation génotype-phénotype

4.9.1 Mutations desmosomales

4.9.1.1 Plakophiline-2

La première étude sur la plakophiline-2 (PKP2) sur les patients remplissant les critères du groupe de travail (TFC) a montré que 32 sur 120 patients portaient une mutation dans ce gène [68]. L'importance de PKP2 a été confirmée dans d'autres études avec un taux de mutation de plus de 43% chez les patients TFC positifs [69, 71-74, 108-111]. Chez Van Tintelen (2006), il a même atteint un taux de 70% chez des cas familiaux dépistés très tôt alors que ce taux était nul pour les patients sans histoire familiale. Jusqu'à maintenant, environ 50 mutations ont été trouvées dans PKP2, pour la plupart des mutations tronquées. Onze mutations identiques ont été identifiées dans différentes études [68, 108, 110].

Dalal, Molin (2006) démontrèrent que les patients porteurs de mutation dans PKP2 développent la maladie à un âge plus jeune que ceux ne portant pas de mutation dans ce

gène (28 ± 11 versus 36 ± 16 années; $P < 0.05$). En plus, la médiane cumulative de survie des patients sans symptômes et sans arythmies était inférieure chez les porteurs de mutation dans PKP2 que dans les non-porteurs (respectivement, 32 versus 42 ans, et 34 versus 46 ans; $P < 0.05$) [108]. D'autres groupes n'identifièrent pas de différence significative entre les porteurs et les non-porteurs de mutation dans PKP2 en ce qui concerne l'âge moyen de la présentation initiale de la maladie, d'une histoire familiale de mort subite, de caractéristiques TFC et d'événements particuliers (lors de tachycardies ventriculaires, de fibrillation ventriculaire, lors de l'implantation d'un défibrillateur approprié, de la réanimation réussie et de la mort subite) [74, 110]. Les seules exceptions les plus rencontrées chez les porteurs furent les ondes T négatives en V_2 - V_3 [110]. Et chez les non-porteurs, un plus grand nombre de cas de tachycardie ventriculaire non-soutenue [109].

La pénétrance est réduite et son expression est variable chez les porteurs de mutations du gène PKP2. La pénétrance chez ARVC/D est plus élevée chez les hommes que chez les femmes et elle a été évaluée à 62-72% chez les hommes [48, 112]. Ceci pourrait être causée par des facteurs tels que l'exposition aux activités athlétiques plus vigoureuses, aux agents viraux et aux agents biologiques tels que l'effet inhibiteur des estrogènes sur l'apoptose cellulaire du myocarde [113, 114]. De plus, d'autres facteurs épigénétiques (modifications transmissibles et réversibles de l'expression des gènes ne s'accompagnant pas de changements des séquences nucléotidiques) pourrait jouer un rôle [82].

Une pénétrance liée à l'âge réduit a aussi été observée dans plusieurs arbres généalogiques. Les porteurs de mutation dans PKP2 démontreraient un phénotype de maladie normal ou peu grave, même à des âges s'élevant à plus de 70 ans. On a rapporté une pénétrance proche de 50% parmi les porteurs de mutation PKP2, même si l'influence du sexe et de l'âge n'était pas représentés [68, 84, 109, 115, 116]. Dalal, James (2006), ont étudié 26 porteurs de mutations PKP2, reliés à 9 cas-index qui avaient démontrés au préalable être porteurs de mutations PKP2 pathogènes, étaient suivis à des cliniques de dépistage. Huit (31%) furent diagnostiqués avec ARVC/D, alors que neuf (35%) avaient au moins certains critères TFC autres qu'une histoire familiale. La pénétrance des

symptômes, le diagnostique (rencontrant TFC), les cas de tachycardie ventriculaire, et la mort subite ont été démontrés comme étant âge-dépendant [115].

La variabilité clinique et la pénétrance réduite (ne remplit pas tous les critères) associée à des mutations dans PKP2 a été corroborée par le fait que de telles mutations ont été identifiées dans plus de 5% des patients qui ne remplissaient pas complètement TFC [109, 110].

À part l'absence de caractéristiques chez les porteurs de mutation PKP2, il arrive aussi que des phénocopies se produisent (une phénocopie, sous certaines conditions environnementales imite un phénotype déterminé par un génotype). Syrris (2006) ont identifié des membres de familles qui remplissaient les TFC modifiés, mais qui ne portaient pas la mutation PKP2 identifiée dans le cas-index (faux positifs). Ces phénocopies ont été principalement représentées par l'inclusion d'événements fréquents d'extrasystole ventriculaire par surveillance Holter et la surinterprétation d'anomalies des parois ventriculaires par imagerie. D'autre part, ceci peut être totalement une coïncidence, et pourrait nous éclairer sur de possibles facteurs génétiques autres qui expliqueraient la variabilité clinique chez les membres de familles [82].

4.9.1.2 Desmoplakine

Les mutations dans la desmoplakine (DSP) sont associées avec deux syndromes à hérédité autosomique récessive; le syndrome de Carvajal, et une variante de la maladie de Naxos (*Naxos-like disorder*). Le syndrome de Carvajal consiste en une cardiomyopathie dilatée (DCM), dilatation et détérioration du ventricule gauche, associé à des cheveux laineux et une kératose palmo-plantaire. La variante de la maladie de Naxos consiste en un ARVC/D, des cheveux laineux, et d'une affection cutanée épidermolytique [117-119]. De plus, des mutations dans DSP ont été identifiées dans un ARVC/D autosomique dominant non-syndromique typique en ce qui concerne les caractéristiques électrocardiographiques et structurelles [63, 120]. Les mutations dans DSP ont été identifiées chez 4/25 patients italiens avec ARVC/D (16%), plus tard confirmé dans de plus grandes cohortes de la même population [72, 120]. Finalement Yang (2006) a

identifié des mutations dans DSP chez 4/66 (6%) des patients ARVC/D d'Amérique du nord [111].

Le spectre clinique d'ARVC/D familial causé par des mutations dans DSP est plutôt hétérogène. Un haut taux de mort subite, même comme première manifestation est observé. De plus, une affection au ventricule gauche est constatée dans la moitié des patients [121-123]. Le rôle de DSP dans l'implication du ventricule gauche dans ARVC/D a été étayé par l'identification d'une mutation en particulier, qui a pour résultat une extrémité carboxy-terminale écourtée de DSP dans une famille avec ARVC/D avec affection prédominante du ventricule gauche (mais pas exclusive) appelé aussi cardiomyopathie arythmogène du ventricule gauche [123]. Les manifestations cliniques incluent une implication ventriculaire gauche qui précède le développement d'une dysfonction ventriculaire significative, inversion de l'onde T latérale, et d'arythmies [83, 123]. Ce sont les anomalies de repolarisation importantes, les arythmies ventriculaires, et les anévrismes du ventricule droit qui distinguent la cardiomyopathie du ventricule gauche de DCM [120].

Il a été proposé que les mutations dans DSP sont le résultat d'un raccourcissement de l'extrémité carboxy-terminale de DSP (qui est localisé dans la couche intérieure dense des desmosomes, et contenant le site de liaison à la desmine) qui prédispose à une implication précoce du ventricule gauche. Ceci a pour résultat une perturbation de l'intégrité du cytosquelette, et pourrait expliquer la haute prévalence d'atteinte au ventricule gauche [83]. Paradoxalement, les mutations dans DSP de la couche extérieure dense sont associées à un phénotype ventriculaire droit prédominant. Comment deux mutations dans un même gène peut-il causer des phénotypes si différents?

En 2000, une mutation a été identifiée pour le syndrome de Carvajal dans DSP [118]. La mutation résultant en une troncation du domaine carboxyl-terminal rendant cette protéine incapable de lier des filaments intermédiaires, la desmine (DES) en majorité. Dans l'étude présentée par Yang (2006), une mutation de DSP dans la région carboxy-terminale est présentée, mais le phénotype est ARVC/D [111]. Les deux mutations causent une perte d'interaction entre DES et le complexe desmosomal. Comment une protéine peut-elle causer deux résultats différents quand les mutations sont dans une région semblable de la protéine? Dans Yang (2006), une mutation ponctuelle est trouvée dans le domaine

carboxy-terminal de DSP, région riche en résidus sérine. Dans le syndrome Carvajal, la mutation est une troncation complète de cette même région. Ainsi, la différence dans les deux maladies est la présence de la région riche en sérine dans DSP [124].

Bien que ce soit clair que la mutation ponctuelle R2834H (remplacement d'une arginine par une histidine à la position 2834) de Yang (2006) cause une perte de liaison entre la structure des desmosomes et les filaments intermédiaires, tout comme la troncation de DSP dans le syndrome Carvajal, il semble se produire un changement dans la réponse cellulaire à la perte d'arginine à la position 2834 passant d'un désordre ventriculaire principalement gauche à un désordre ventriculaire droit. Cela suggère que la région carboxy-terminale de DSP doit être impliquée dans une voie de signalisation critique. Comme exposé ci-dessus, le site de la mutation ponctuelle dans DSP se trouve dans une région riche en sérine près de la partie carboxy-terminale de la protéine [124]. Ces régions riches en sérine sont des sites de phosphorylation par la protéine kinase A (PKA) et la protéine kinase C (PKC) dans beaucoup de protéines et l'on a précédemment démontré que la phosphorylation de DSP par la PKA à la position sérine 2849, juste en aval de la mutation R2834H, règle négativement la capacité de DSP à interagir avec les filaments intermédiaires [125]. Se pourrait-il que la région riche en sérine soit toujours fonctionnelle dans la voie de signalisation dans la mutation R2834H, mais absente dans la troncation? Des études initiales présentées par Yang (2006) suggèrent cette possibilité en montrant des changements de proportion des protéines de jonction, particulièrement la proportion de la plakoglobine (JUP) dans les fractions solubles (non associé au cytosquelette) [111]. Aussi, tandis que l'immunocoloration montre que la connexine 43 (cx43) est localisée aux sites où les myocytes sont toujours interconnectés, la fonctionnalité des jonctions est inconnue. De plus, l'augmentation de cx43 dans la partie soluble suggère que cette protéine soit aussi internalisée, un résultat qui peut être strictement mécanique à cause de la perte de contact cellulaire entre les disques intercalaires, et à cause des changements dans la transduction du signal de la voie de signalisation. La présence de JUP, connu pour être médiée par les facteurs de transcription TCF/LEF, dans la fraction soluble suggère que l'activation d'une telle voie de signalisation arrive après la mutation R2834H. Ainsi, la perte d'un seul acide aminé

dans la desmoplakine peut causer le phénotype vu dans ARVC/D ou dans le syndrome de Carvajal, dépendamment de quelle voie de signalisation est activée [124].

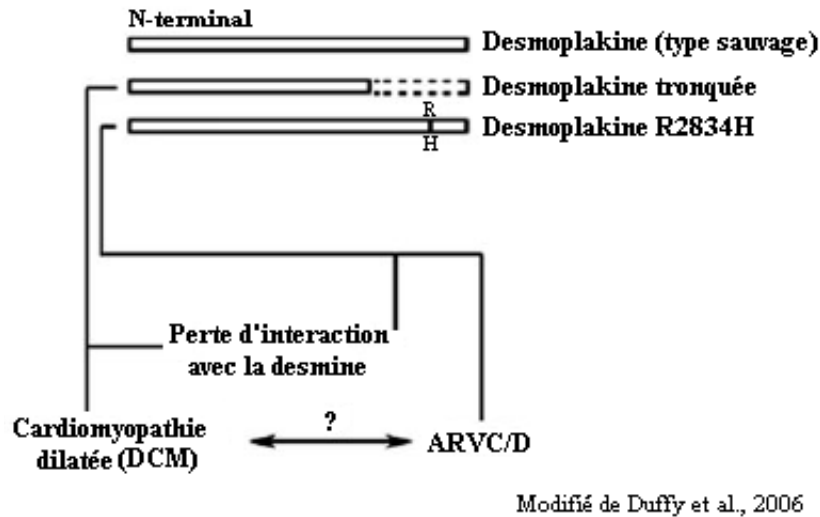


Figure 1.7 : Représentation schématique des deux mécanismes possible lors d'une mutation dans la desmoplakine menant à deux phénotypes différents.

4.9.1.3 Plakoglobine

Chez 19 patients affectés par la maladie de Naxos, ARVC/D à patron de transmission autosomique récessive accompagné de cheveux laineux et kératose palmo-plantaire, une délétion homozygote de 2 paires de bases dans la plakoglobine (JUP) fut identifiée. Les porteurs hétérozygotes de cette mutation ne démontrent aucun signe de la maladie, et jusqu'à 2007, aucune mutation dominante n'avait été identifiée dans JUP [67]. Des études *in vitro* de cellules endothéliales ont démontré que l'inhibition de l'expression de JUP induit une dissociation inter-cellulaire en réponse au stress, mais pas en condition de repos [126]. Les embryons de souris déficientes homozygotes en JUP sont morts d'une rupture ventriculaire lorsque les cellules du myocarde étaient soumises à un stress mécanique [127]. Des souris déficientes homozygotes en JUP démontrent une image clinique identique à la maladie de Naxos. Des tests d'endurance chez les souris déficientes en JUP hétérozygotes accélère le développement d'une dysfonction

ventriculaire et d'arythmies, supportant l'hypothèse selon laquelle l'exercice aggrave et accélère le développement ARVC/D [128]. Aucun remplacement de tissus myocardial par du tissu fibro-adipeux ne fut observé chez ces souris.

Asimaki (2007) identifia la première mutation dominante dans JUP causant ARVC/D dans une famille allemande. La mutation, prédite pour insérer un résidu de sérine à la position 39 de la partie N-terminale de la protéine, présente un ARVC/D sans les anomalies de la peau que la maladie de Naxos cause. L'analyse de la biopsie du ventricule droit du cas-index montre une baisse marquée de la localisation de JUP, de DSP, et de cx43. Une analyse double-hybride a démontré que la protéine mutante établie de nouvelles interactions [129].

4.9.1.4 Desmoglénine-2

Chez les patients atteints d'ARVC/D, les mutations dans la desmoglénine-2 (DSG2) ont été identifiées dans 10% des patients dépistés (8/80; 12% du groupe négatif pour PKP2, DSP et TGF- β 3 (facteur de croissance bêta-3)) [72]. Cette proportion fut confirmée dans d'autres études [69, 74]. Une pénétrance réduite et l'implication d'autres mutations hétérozygotes sont observées. De façon intéressante, certains porteurs de mutation dans DSG2 sont affectés exclusivement au ventricule gauche. Ce qui fait penser qu'il faudrait peut-être abandonner le concept original d'ARVC/D d'une affection uniquement isolé au ventricule droit [74].

4.9.1.5 Desmocolline-2

La desmocolline-2 (DSC2) est la protéine desmosomale reliée à ARVC/D la plus récente. Comme DSG2, DSC2 est un constituant majeur des cadhérines desmosomales et a pour conséquent été considéré comme un gène candidat important. Syrris, Ward, Evans (2006) ont trouvé des mutations dans la DSC2 dans 4/77 (5%) des patients ARVC négatifs pour DSP, JUP, PKP2, et DSG2, tous avec une pénétrance incomplète dans les familles étudiées. Une implication ventriculaire gauche est observée dans la majorité des patients porteurs avec certains d'entre eux dont l'affection ventriculaire gauche est prédominante

[73]. De façon simultanée, Heuser (2006) identifia une mutation au site d'épissage dans 1 des 88 patients ARVC/D négatifs pour PKP2 et DSG2 [71].

4.9.2 Mutations des gènes non-desmosomaux

4.9.2.1 Facteur de croissance - β 3

Beffagna (2005) a décrit deux familles avec une mutation dans les régions 3' et 5' UTR (région non-transcrite) respectivement du gène du facteur de croissance bêta-3 (TGF- β 3) qui mène à une expression altérée de la protéine. Aucune mutation ne fut identifiée dans ce gène chez deux autres familles ARVC/D-1. Il semble qu'une surexpression de TGF- β 3, une cytokine stimulant la production de composants extracellulaires, pourrait mener à de la fibrose myocardiale. Cette étude suggère que différentes voies peuvent mener à l'apoptose des myocytes et l'atrophie du myocarde [59].

4.9.2.2 Récepteur cardiaque de la ryanodine

Huit familles ayant un phénotype distinct d'une pénétrance d'ARVC/D très élevée associée à une tachycardie ventriculaire polymorphe cathécolaminergique, et une mutation dans le récepteur cardiaque de la ryanodine (RYR2) ont été décrites [122]. RYR2 est le canal calcique qui contrôle la relâche du calcium du réticulum sarcoplasmique au cytosol dans les cardiomyocytes. Ayant une grande ressemblance avec la tachycardie ventriculaire polymorphe cathécolaminergique familiale, il existe encore une controverse à savoir si cette entité devrait être considérée comme une forme primaire d'ARVC/D.

4.10 Implications cliniques

En conséquence d'une variabilité clinique intrinsèque d'ARVC/D, les critères du groupe de travail (TFC) est un guide valable en ce qui concerne l'approche initiale d'un patient avec des caractéristiques d'ARVC/D. On doit être conscient que ceux-ci ne tiennent pas

compte de l'affectation ventriculaire gauche. La légitimation croissante de l'implication du ventricule gauche a été démontré dans plusieurs études [73, 74, 123]. La pénétrance faible et sa variabilité d'expression suggèrent que les cliniciens ne devraient pas souscrire de façon exclusive au TFC lors de la sélection de patients pour l'analyse génétique car l'identification de mutations peut avoir d'importantes implications pour la pratique clinique. Premièrement, il peut faciliter la clarification d'un diagnostic pour les cas limite. Deuxièmement, bien que le cours clinique de la maladie ne puisse être prédit par des analyses d'ADN, il peut aider à identifier les individus à risque. Ceci facilite aussi le diagnostic en un temps opportun, avec la possibilité subséquente de prévenir les complications et réduisant la morbidité et la mortalité. Les prédispositions génétiques peuvent mener à des changements dans le style de vie tel qu'éviter l'exercice énergétique et éprouvant. Étant donné la faible pénétrance, un porteur de mutation n'est pas automatique destiné à un phénotype sévère qui est rencontré premièrement dans un membre de la famille.

Finalement, le développement de la biologie moléculaire pourra permettre le dépistage en série des membres d'une famille avec une valeur prédictive négative élevée. Jusqu'à présent il a été pratique commune d'examiner les parents proches du cas-index à intervalles réguliers. L'identification d'une mutation pathogène dans un cas-index donnera l'occasion de rassurer les membres des familles qui n'ont pas démontré d'anomalies cardiaques dans le suivi périodique, et qui ne portent pas la mutation du cas-index. Ceux-ci peuvent être écartés du suivi régulier.

Les connaissances récemment acquises dans la biologie moléculaire et la pathogénèse d'ARVC/D créent de nouveaux défis en ce qui concerne l'identification appropriée et le traitement des porteurs de mutations sans anomalies cardiaques structurelles apparentes, mais avec le risque accru d'arythmies. De plus, se trouve là un défi majeur dans la clarification de facteurs étant à la base de la non-pénétrance, des facteurs de risque et des stratégies thérapeutiques [82].

4.11 Perspectives

Après la reconnaissance initiale de la cardiomyopathie hypertrophique (HCM) principalement comme une maladie des sarcomères et DCM comme une maladie du cytosquelette, ARVC/D peut être considéré comme une maladie des desmosomes, avec le gène PKP2 comme joueur clé suivi par DSP et DSG2. Comme rencontré dans DCM et HCM, le chevauchement dans les gènes codant pour les protéines de leurs structures respectives (sarcomère, cytosquelette) peut se produire. ARVC/D a lui-même aussi des caractéristiques intrinsèques intéressantes, comme l'implication ventriculaire gauche qui peuvent imiter DCM, qui doit mener à la clarification de ces chevauchements dans les cardiomyopathies. La reconnaissance d'ARVC/D comme une cardiomyopathie des desmosomes tracera la voie à l'élucidation d'autres facteurs génétiques ou non qui initieraient le développement de la maladie chez les porteurs de mutations qui expliqueraient le large spectre clinique. L'énorme progrès sur la connaissance de la pathogénèse ces dernières années est une étape importante, mais seulement un commencement [82].

4.12 Objectifs

Comme nous avons pu le constater, les données génétiques des dernières années ont permis des avancées importantes dans notre compréhension de la maladie. L'objectif principal du présent projet est de déterminer l'utilité et la valeur du test génétique dans ARVC/D afin d'améliorer le diagnostic de cette maladie chez les personnes atteintes. Nous voulons déterminer à quel point l'identification d'une mutation dans l'une des protéines des desmosomes permet le diagnostic d'ARVC/D et la prise en charge de mesures préventives des individus à risque.

Accord des coauteurs de l'article

Ajout d'une auteure

Apport des différents auteurs de l'article

Article intitulé :

«Role of genetic testing in ARVC. Experience from a single center prospective cohort.»

Catherine Barahona-Dussault : Réalisation de la majorité des expériences présentées dans l'article. Rédaction d'une partie de l'article.

Begoña Benito (MD) : Analyses des profils cliniques de la majorité des patients atteints d'ARVC/D. Rédaction d'une partie de l'article.

Eric Lizotte : Réalisation d'une partie des expériences présentées.

Anna Iglesias : Base de données génétiques

Tack Li Leung (MD) : Données cliniques.

Mario Talajic (MD) : Données cliniques.

Ramon Brugada (MD-PhD) : Directeur de laboratoire. Encadrement général. Analyses des profils cliniques de patients atteints d'ARVC/D. Rédaction de l'article.

Chapitre 2. Article**Role of genetic testing in Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. Experience from a single center prospective cohort.**

Catherine Barahona-Dussault, Begoña Benito, Anna Iglesias, Oscar Campuzano, Tack Li Leung, Laura Robb, Mario Talajic, Ramon Brugada

Institut de Cardiologie de Montreal

Key Words: genetic, ARVC, sudden death, desmosome

Corresponding author: Ramon Brugada, M.D., Ph.D.,
Institut de Cardiologie de Montréal
5000, rue Bélanger
Code postal H1T-1C8
Canada
tél.514 376 3330
Fax 514 376 1355
e-mail : ramon@brugada.org

ABSTRACT

Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC) is a genetic disorder characterized by the presence of focal fibro-fatty replacement of the myocardium in the right ventricle and an increased risk of cardiac arrhythmias and sudden death. The diagnosis of the genetic carriers bears important implications in patients and family members, who unknowingly may be at risk for sudden death. In order to assess the value of genetic testing in ARVC, we performed clinical and genetic investigation in a prospective cohort of individuals with the disease.

Methods: The probands were identified during clinical investigation for arrhythmias or after the death of a family member. The diagnosis of ARVC was made according to accepted criteria. Genetic analysis of desmosomal proteins previously associated with the disease was performed by sequencing the exons and intron-exon boundaries using well accepted protocols.

Results: The clinical diagnosis was clear in 18/23 and suspicious in 5/23 individuals. Of the latter, genetic testing enabled the diagnosis of ARVC in 3 additional individuals. We identified 15 different mutations in 10 probands (43%). Of those, 64% were not previously described and PKP2 accounted for the majority of the disease (35%). Double or triple mutants were observed in 40% of the positive individuals. Patients with mutations were younger and had a trend to present more symptoms than individuals with no mutation. There was a deep trend towards more symptoms in patients with multiple mutations, however this did not correlate with a worst morphological phenotype.

Conclusion: Genetic testing provides the diagnosis in 43% of patients with ARVC and is useful for patients who do not completely fulfill the clinical criteria for the disease. The presence of double and even triple mutants was not clearly associated with a more severe phenotype in this small series. Genetic testing is a useful tool to add to the clinical testing for the diagnosis of patients who do not completely fulfill the clinical criteria for the disease.

INTRODUCTION

First described in 1974, arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC) was initially thought to be a rare disorder. It has been shown to occur, in some populations, in as many as six people per ten thousand. ARVC is an important cause of sudden cardiac death (SCD) in the young and especially in the athlete [1-4]. ARVC is characterized by the presence of fibro-fatty replacement of myocardial tissue in the right ventricle. The progressive replacement is localised between the anterior infundibulum, right ventricular apex, and inferior or diaphragmatic parts of the right ventricle, a region called the “triangle of dysplasia” [2]. The left ventricle and septum are frequently involved in the most severe cases while the specialized cardiac conduction system is often spared [5]. The disease is associated with palpitations, syncope and sudden cardiac death, usually caused by ventricular arrhythmias. These arrhythmias and the characteristic patterns of ARVC on an electrocardiogram can be explained by the alteration of the pattern of activation and transmission of electrical currents across the myocytes leading to simultaneous tachycardia and dysplasia [6, 7].

There is a strong familial association with ARVC. Up to fifty per cent of patients affected have a family history of ARVC. Most will inherit ARVC by an autosomal dominant pattern of transmission (MIM#107970) and others by an autosomal recessive inheritance (Naxos disease, MIM#601214) [8]. Very difficult to diagnose, ARVC carries serious implications for the family of the affected patient. Unfortunately, sudden death is often the first manifestation of the disorder. In 1994, a working group on pericardial and myocardial disease of the European Society of Cardiology and the Scientific Committee on Cardiomyopathies of the International Society and Federation of Cardiology proposed a set of criteria that are now used as standard in clinical diagnosis [9]. However, because of the focalised aspect of ARVC, these tools appear to lack specificity [10].

The genetics of ARVC appear to be more distinct. Seven causal genes and several loci mapped have been identified. That includes 5 desmosomal genes, Plakophilin-2 (*PKP2*), Desmoplakin (*DMP*), Plakoglobin (*PKG*), Desmocollin-2 (*DMC2*) and Desmoglein-2 (*DMG2*). While the majority of mutations identified are localized on proteins of the

desmosomes, two non-desmosomal genes, Transforming growth factor beta 3 (*TGFβ3*) and cardiac Ryanodine receptor 2 (*RYR2*) have also been described (there is though an ongoing debate on whether the morphological alterations in carriers of a *RYR2* mutation fulfill diagnostic criteria for the disease or they suffer from catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia). The penetrance of the disease is variable, depending on the affected gene [11]. Either in dominant or in recessive form, the defects in desmosomal proteins in ARVC cause a phenotype resulting from a deficiency in intercellular connections [12]. We now know that desmosomes contribute to a tissue's mechanical strength and are numerous in tissue like cardiomyocytes that are exposed to mechanical stress [13].

In order to assess the added value of genetics in the diagnosis of ARVC, and given the claimed non-specificity of the present proposed clinical criteria, we performed a prospective genetic analysis of the known desmosomal genes in individuals with a clear or suspected affection with the disease.

METHODS AND MATERIAL

Clinical Screening

The cohort included 23 consecutive patients suspected of having ARVC and evaluated at the Genetic Cardiovascular Clinic of Montreal Heart Institute. These individuals were identified either after the death of a family member with the disease and/or after presenting with clinical signs or symptoms of the disease. The clinical investigation included non-invasive technology, electrocardiography, echocardiography and magnetic resonance imaging.

Genetic Screening and Mutation Identification

The protocol was approved by the ethical committee. In those patients willing to undergo genetic testing, we obtained a blood sample for DNA extraction using standard techniques (PUREGENE DNA Purification kit, QIAGEN, CA, USA). DNA analysis of the genes of interest was performed by PCR amplification. PCR product was purified with ExoSAP-IT (United States Biochemical Corporation, Cleveland, OH, USA). Subsequent sequencing analysis of the exons and intron-exon boundaries was performed with BigDye Terminator v3.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), and with Genetic Analyzer 3130XL (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). For each new found variation, we performed screening of 400 control alleles.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using SPSS v.16. Results are reported as mean \pm SD or frequency as appropriate. Since none of the continuous variables had normal distribution, comparisons between groups with and without mutation were performed using non-parametric tests. For categorical variables, Fisher exact test was used in 2x2 and Chi-square analysis was used if multiple categories were present. A p value of < 0.05 was considered statistically significant.

RESULTS

Clinical Information

The general characteristics of the patients are shown in table 1. Females were predominant in our cohort (61%). The mean age at the diagnosis was 48 and half the population had a family history of sudden cardiac death. 57% of the patients were asymptomatic at the time of the diagnosis and 17% had a history of malignant arrhythmias and/or sudden cardiac death. Five patients did not fulfill the accepted criteria for the diagnosis of ARVC, however they had clinical signs that were suspicious enough to believe that they suffered from the disease. Given the lack of specificity claimed in the accepted criteria, we opted to include these patients in the cohort to assess the value of genetic testing in better defining their disease aetiology.

Identification of mutations/mutational analysis

The probands were screened in the following order: *PKP2*, *DSP*, *DSG2*, *DSC2*, and *JUP*. We started with *PKP2* because it has been identified as the most important gene for ARVC (32 to 43 %) [14-23]. Then we followed with *DSP* (16%) [17, 24], *DSG2* (10%) [15, 17, 19], and finally with *DSC2* (1-5%) [16, 18]. If no mutations were found in these genes, we chose to screen *JUP* as well despite the absence of Naxos phenotype in all our probands. Screening for *JUP* is justified by the recent findings of Asimaki (2007) who identified the first dominant *JUP* mutation in a family with an ARVC phenotype without the skin disorder characterized in Naxos disease [25].

Of our 23 probands, 43% (n=10) were positive for mutations. Of these 10 positive patients, we identified 15 mutations (14 of them different). The mutations were located in the genes in the following proportion: 7 in *PKP2* (total of 8), 2 in *DSP*, 2 in *DSG2* and 3 in *DSC2*. We obtained a high percentage of previously unknown mutations (60%). Finally, 40% (n=4) of the positive patients were double or triple mutants. Genetic findings are shown in table 2.

Mutation analysis of the PKP2 gene

Eight genetic variants in *PKP2* were identified in 7 of the 23 probands (30%), comprising 3 missense substitutions, 1 deletion (twice), 1 non-sense substitution and 2 abnormal splicing (figure 1). The missense substitutions included A1892G (Y631C), G409A (E137K), and A505G (S169G). Y631C is a change of an aminoacid non-polar with an aromatic functional group to a polar (uncharged) sulfur containing aminoacid. E137K is predicted to change an acidic polar (charged) residue to a basic polar, positively charged residue. S169G is a polar uncharged with a hydroxyl group residue that change for an aliphatic non-polar residue. The deletion that occurred twice in 2 different probands and already described was 2509delA (V837fs+93X). The non-sense substitution was G1613A (W538X), and truncated the protein at approximately the middle of the protein. Finally, the two mutant splice products were 1690-1G→C and 2146-1G→C. Of these 8 mutations, 4 were previously unknown. One individual carried two different mutations in *PKP2*. None of these 4 novel mutations were identified in 400 control alleles.

Mutation analysis of the DSP gene

Genetic variants in *DSP* were identified in 2 of the 23 probands (8.7%) (figure 1). That comprises 1 deletion and 1 missense substitution. Both are novel mutations. The deletion is described as 7503_7508delTGAATG and its amino effect is a deletion of EW at position 2501. The missense substitution is C4578A (N1526K). This mutation is predicted to change polar uncharged residue sulfur containing to polar positively charged basic amino acid. None of these mutations was found in 400 control alleles.

Mutations analysis of the DSG2 gene

Genetic variants in *DSG2* were found in 2 of our probands (8.7%) (figure 1). Both of them were missense substitutions and had been previously described (G146A (R49H) and T2759G (V920G)).

Mutation analysis of the DSC2 gene

Genetic variants in *DSC2* were identified in 3 probands (13%), comprising 1 non-sense and 2 missense substitutions (figure 1). These substitutions includes 96delC (C32X), deletion that leads to a non-sense substitution at the beginning of the protein. T692C (I231T) is predicted to change an aliphatic non-polar residue to a non-aromatic polar (uncharged) residue. A1017G (T340A) is predicted to change a non-aromatic polar (uncharged) residue to an aliphatic non-polar residue. All of them are novel mutations. None of these mutations were found in 400 control alleles.

Mutation analysis of the JUP gene

We screened the *JUP* gene for all our negative mutant probands (n=13). We did not identify any mutations in this gene.

Polymorphism analysis

We recorded all the polymorphisms present in all our probands. Table 3 lists all the polymorphisms associated with the negative patients, and table 4 the polymorphisms associated with the positive probands. We can see that the most prevalent polymorphism in negative probands was M697L in *JUP*. It was present in 77% of the negative probands (10/13), while it was not present in the positive probands. The second most prevalent polymorphisms in negative probands were, K773R in *DSG2* (46%) and P366L in *PKP2* (31%). These were found respectively in 0% (0/11) and 18% (2/11) of positive probands. The most prevalent polymorphism in positive probands was R1738Q in *DSP*, which was present in 36% (4/11) while only in 15% (2/13) of negative probands.

Genotype-phenotype correlation

We performed genotype-phenotype correlation analyses to assess whether the presence of one or more mutations could be associated with more severe forms of the disease. The limited cohort did not permit conclusive data and therefore these results have to be taken with caution. Individuals with an identified mutation had a younger age at diagnosis and

had a trend towards more symptoms. However there was no correlation with higher structural abnormalities (table 5). The presence of more than one mutation was associated with a trend towards more symptoms (table 6). While the presence of several mutations should probably be associated with a more severe structural phenotype, knowledge of the role of variations in modulating the phenotype and determining the prevalence is lacking.

DISCUSSION

Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy is extremely difficult to diagnose in borderline cases. The presence of focal morphological alterations can escape the most sophisticated technologies. Biopsy provides the definitive proof of the disease with the presence of fibro-fatty replacement of the myocardium. However it is not always diagnostic due to the sample being obtained from the interventricular septum, a portion of the heart frequently spared from the disease. With this perspective in mind, a group of experts suggested a set of criteria to obtain the diagnosis [9]. These criteria, which combine family history, symptoms, morphological and electrical parameters are useful in the most severe cases, however they lack specificity. It is not therefore uncommon to identify individuals who fulfill certain criteria for the disease, but not sufficient to meet the diagnosis. These borderline cases become a difficult headache for the cardiologist because of the implications of the patient suffering from a potential disease with such a malignant outcome.

The advances in ARVC have been fast and steady. In this last decade, thanks to the advances in genetics, several genes and loci have been identified responsible for the disease. Most of the mutations have been identified in proteins of the desmosomes, critical units of electromechanical coupling. In addition, mutations in *RYR2* were identified in a family with minimal structural abnormalities. The knowledge of the implicated genes underlying dominant ARVC was very restricted until mid 2004. Only 3 gene and 6 loci had been identified: *RYR2*, *TGF- β 3* and *DSP* [26-34]. In parallel, in 2000, a group found a homozygote deletion of two base pair in *JUP*, causing the recessive form of ARVC (Naxos disease) [35]. However, at the end of 2004 several mutations were identified in *PKP2*, which has become the most common gene responsible for the disease [14].

The identification of several genes responsible for ARVC has enabled the detection of individuals and family members at risk for the disease. What initially was a research tool has recently made the jump to the clinical arena, to identify patients with and without the disease and prevent sudden cardiac death. Given that the clinical tools are lacking

specificity, we opted to investigate prospectively the value of genetic testing to confirm the disease and also to evaluate whether it has a role in further confirmation of individuals who do not completely fulfill task force criteria but who have a suspicion for the disease.

In this article, we therefore performed a clinical and genetic analysis of 23 consecutive patients with a clinical or suspected diagnosis of the disease and performed phenotype-genotype correlation according to the number of mutations present in the individuals. Five of our patients did not meet clinical criteria for the diagnosis, but due to their clinical and morphological parameters, we suspected that they suffered from the disease. We opted to screen them to evaluate whether genetic testing can strengthen the clinical testing. Three out of these five individuals had mutations in desmosomal proteins, showing the added value of genetics in the diagnosis of borderline cases. We have shown that of our 18 probands with a clear diagnosis according to task force criteria, 38% (n=7) were positive for mutations. This is in concordance with previously published data. Of these 10 positive patients, we identified 14 different mutations (15 in total). *PKP2* was also the most common gene responsible (35%) for ARVC, followed by *DSP* (8.7%) and *DSG2* (8.7%), prevalence similar to the values found in the literature [14-24]. The *DSC2* value (13%) is higher than expected, but our sample size is too small to consider it significant. Of notice is the extremely high percentage of novel mutations (64%). This finding has important implications in genetic testing that uses technology based on previously known mutations, which would be of limited value for the diagnosis of ARVC. In addition, 40% (n=4) of the positive patients were carriers of a double or triple mutant in our series, attesting to the importance of screening individuals for all genes, especially if there is the intention to evaluate the risk of family members for the disease.

The pathogenicity of the novel mutation identified cannot all be established with certainty. Of the two novel *DSP* mutations, 2501_2502delCE is not located in a functional domain, while N1526K is located in the functional coiled coil domain (central fibrous rod domain) of the protein. All novel *PKP2* mutations are located outside functional domains of the protein, but all mutations are present in conserved region of *PKP2* when compared to human, chimpanzee, hedgehog, dog and mouse. Novel mutations in *DSC2* are located

inside a functional domain of the protein; 96delC truncates the protein translation, I231T is located in the cadherin 1 domain and T340A is located in the cadherin-2 domain of *DSC2*. The 96delC and I231T mutations are also located in conserved nucleotide regions of the gene.

Several polymorphisms were also identified during the screening. It is interesting to observe that the majority of negative probands has more than 3 non-synonymous polymorphisms, the implications though are yet unknown. While thought benign, it is unclear whether they could play a role in modulating the severity of the disease when associated with other variations (mutations or polymorphisms) in the same or other desmosomal proteins. We know that M697L in *JUP* was identified to co-segregate with the non-sense mutation in *DSP* R1267X in a family with early-onset ARVC. It has been suggested that this polymorphism has a negative modifier effect on the cardiac phenotype with the presence of the mutation described in *DSP* [37]. In our cohort, M697L was the most common polymorphism in the negative probands (69%), while it was not present in the mutation positive patients. However, an association to the disease with such a small cohort would just be speculation. A second known polymorphism, P366L in *PKP2* is relatively present in negative probands (31%). This variant do not change the charge of the amino acid, and according to Lahtinen et al the allele frequencies between ARVC patients and healthy control is not significantly different [38]. The variant K773R found in *DSG2* at 38% in negative probands has unknown clinical association and it does not change the charge of the amino acid. The variant R1738Q, the most present in positive probands (36%), predicts to change from large size and basic residue to medium size and polar residue in a conserved region of the protein, the coiled coil (central fibrous rod domain), but no clinical association has been identified up to date.

The limited cohort did not permit conclusive data on the phenotype-genotype correlation, and therefore these results have to be taken with caution. Individuals with an identified mutation had a younger age at diagnosis and had a trend towards more symptoms. However there was no correlation with higher structural abnormalities. The presence of more than one mutation was also associated with a trend towards more symptoms. While the presence of several mutations should probably be associated with a more severe

structural phenotype, knowledge of the role of variations in modulating the phenotype and determining the prevalence is lacking.

Conclusion

In a cohort of patients with suspected ARVC, genetic testing is useful in confirming the diagnosis and enables the adoption of preventive measures in family members. The use of genetic testing adds an important value to the diagnosis of individuals who do not completely fulfill task force criteria for the disease. The use of screening genetic technology based on the identification of known mutations has a very limited value due to the high percentage of novel mutations in this disease. Individuals with a mutation are usually younger and tend to be more symptomatic, but do not have more structural abnormalities when investigated with non-invasive technology. The presence of double and even triple mutants was not clearly associated with a more severe phenotype in this series, however attests to the importance of complete genetic analysis for family identification of individuals at risk, protection and prevention.

Acknowledgements

This work was supported by the Fondation de l'Institut de Cardiologie de Montréal.

Table 1. General characteristics of the global population

	Study population (n=23)
Sex (female), n (%)	14 (61)
Age at diagnosis (years)	48.3 ± 13
Family history of SD, n (%)	12 (52)
<i>Symptoms at diagnosis, n (%):</i>	
- Asymptomatic or mildly symptomatic	13 (57)
- Syncope	6 (26)
- Sustained VT/VF or aborted SD	4 (17)
<i>ECG:</i>	
- Complete RBBB, n (%)	7 (30)
- Epsilon wave, n (%)	3 (13)
- Negative T V1-V3, n (%)	13 (57)
- Negative T V4-V6, n (%)	8 (35)
<i>SAECG:</i>	
- filtered QRS	121.4 ± 26
- HFFA	46.8 ± 24
- voltage RMS last 40ms	28.1 ± 22
- mean voltage last 40ms	19.6 ± 15
<i>Echocardiogram / Cardiac IRM:</i>	
- RV hypokinesia, n (%)	15 (65)
- RV dilation, n (%)	13 (56)
- RV aneurysms, n (%)	10 (43)
- Fibrofatty replacement, n (%)	5 (22)
- RV EF (%)	45.7 ± 11
- Definite LV involvement, n (%)	5 (22)
- LV EF (%)	57.5 ± 7
<i>Arrhythmias:</i>	
- Mean number of VPB in 24h-Holter	3185.4 ± 5207
- >1000 PVB in 24h-Holter, n (%)	7 (30)
- Inducibility of VF in EPS, n (%)	6 (26)
- Spontaneous sustained VT, n (%)	14 (61)
- VT requiring cardioversion, VF or SD	7 (30)
<i>ever, n (%)</i>	
<i>Clinical diagnosis:</i>	
- Mean major criteria per patient	1.91 ± 0.8
- Mean minor criteria per patient	1.48 ± 0.8

Table 2. Genetic findings

Proband	Gene	Exon	Nucleotides	AA change	New mutation
9166	PKP2	9	1892A→G	Y631C	√
	PKP2	13	2509delA	V837fs+93X	
9320	PKP2	3	409G→A	E137K	√
9470	PKP2	11	2146-1G→C	splice	
9821	PKP2	3	505A→G	S169G	√
10229	PKP2	7	1613G→A	W538X	
9724	PKP2	8	1690-1G→C	splice	√
	DSP	23	4578C→A	N1526K	√
9139	DSP	24	7503_7508delTGAATG	2501_2502delCE	√
10575	DSG2	3	146G→A	R49H	
9840	DSC2	2	96delC	C32X	√
	DSC2	6	692T→C	I231T	√
	DSG2	15	2759T→G	V920G	
9243	PKP2	13	2509delA	V837fs+93X	
	DSC2	8	1017A→G	T340A	√

Figure 1. Linear representation of desmosomal protein causing ARVC and location of the mutations found in the study. Mutations in red rectangles are novel.

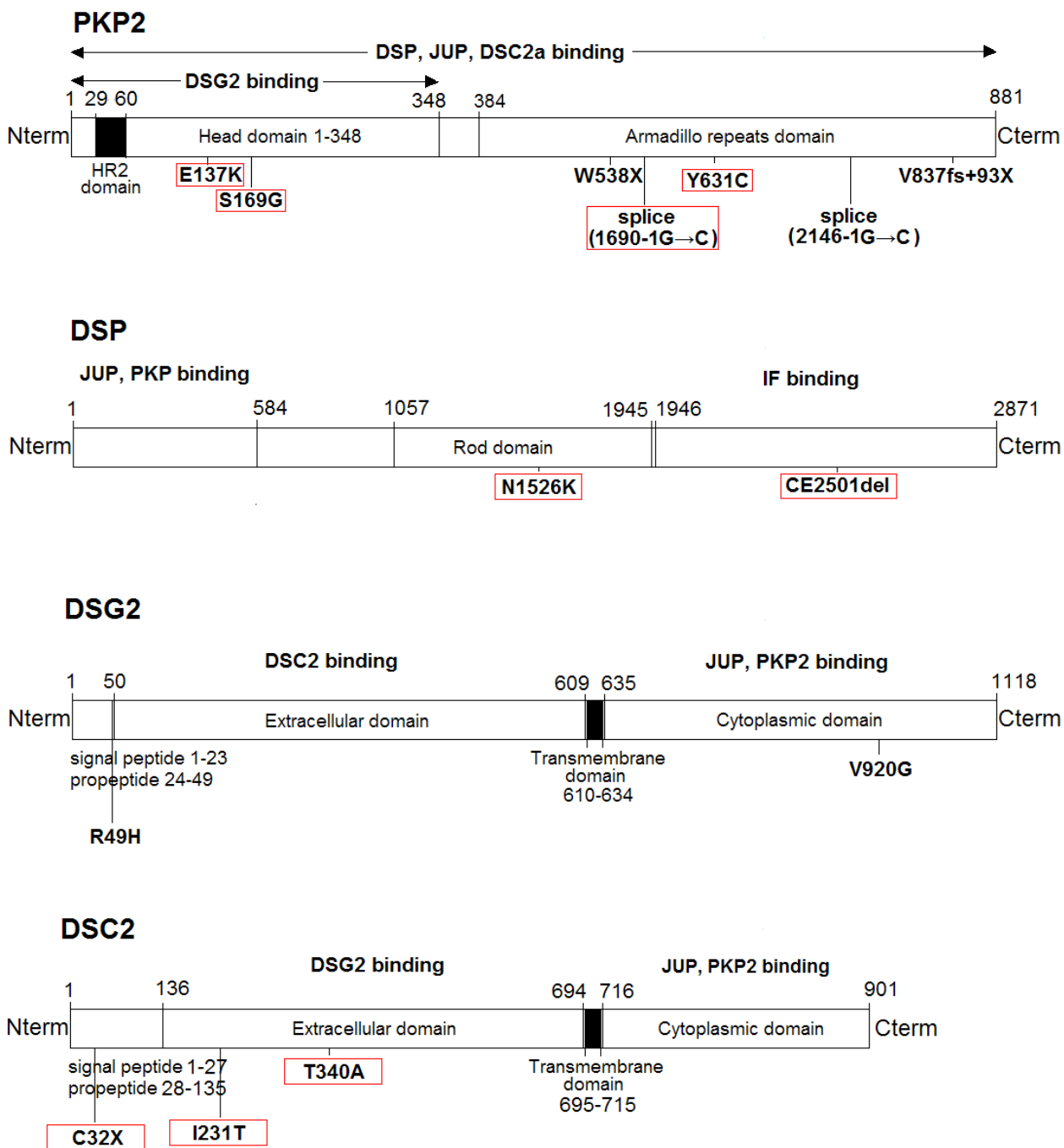


Table 3. List of polymorphisms of genotyped negative probands.

Proband	Gene	Exon	AA change	% Minor allele
9140	DSG2	14	K773R	25
	JUP	14	M697L	27.6
9179	PKP2	1	S70I	/
	PKP2	4	P366L	17
	PKP2	8	V587I	0.8
	DSG2	8	V293I	10.4
	DSG2	14	K773R	25
9216	PKP2	4	P366L	17
	DSP	1	splice	13
	DSP	23	R1537C	0.45
	JUP	14	M697L	27.6
	DSG2	14	E713K	3.5
9226	DSG2	14	K773R	25
	JUP	14	M697L	27.6
	DSG2	14	E713K	3.5
9472	DSP	23	R1738Q	4.2
	DSG2	14	E713K	3.5
	DSG2	14	K773R	25
	JUP	14	M697L	27.6
9534	DSP	7	F305I	2.1
	JUP	14	M697L	27.6
9629	DSC2	15	R798Q	2.1
	JUP	14	M697L	27.6
9726	JUP	14	M697L	27.6
9983	DSC2	15	I776V	8.3
	DSG2	14	K773R	25
10202	PKP2	4	P366L	17
	JUP	14	M697L	27.6
10603	DSP	7	F305I	2.1
	DSP	24	E1833V	1.5
	DSC2	15	R798Q	2.1
	JUP	14	M697L	27.6
10605	PKP2	4	P366L	17
	DSP	1	splice	13
	DSC2	15	I776V	8.3
10085	DSP	23	R1738Q	4.2
	DSC2	15	I776V	8.3
	DSG2	14	K773R	25
	JUP	3	R142H	5.3
	JUP	14	M697L	27.6

Table 4. List of polymorphisms of genotyped positive probands with their mutations.

Proband	Mutations			Polymorphisms			
	Gene	Exon	AA change	Gene	Exon	AA change	% Minor allele
9166	PKP2	9	Y631C	None			none
	PKP2	13	V837fs+93X				
9320	PKP2	3	E137K	PKP2	4	P366L	17
				DSP	23	R1537C	0.45
				DSP	23	R1738Q	4.2
9470	PKP2	11	splice	DSP	23	R1738Q	4.2
9821	PKP2	3	S169G	PKP2	4	P366L	17
10229	PKP2	7	W538X	DSP	23	R1738Q	4.2
9724	PKP2	8	splice	DSP	23	C1512Y	2.5
	DSP	23	N1526K				
9139	DSP	24	ΔCE	none			none
10575	DSG2	3	R49H	DSG2	8	V293I	10.4
9840	DSC2	2	C32X	DSP	23	R1738Q	4.2
	DSC2	6	I231T				
	DSG2	15	V920G				
9243	PKP2	13	V837fs+93X	DSP	1	splice	13
	DSC2	8	T340A	DSC2	15	I776V	8.3
				DSG2	8	V293I	10.4

Table 5. General characteristics of the population with and without identified mutation

	No mutation (n=13)	Identified mutation (n=10)	P
Sex (female), n (%)	7 (54)	7 (70)	NS
Age at diagnosis (years)	53.4 ± 12	41.7 ± 12	0.03
Family history of SD, n (%)	9 (69)	3 (30)	0.07
<i>Symptoms at diagnosis, n (%):</i>			0.08
- Asymptomatic or mildly symptomatic	10 (77)	3 (30)	
- Syncope	2 (15)	4 (40)	
- Sustained VT/VF or aborted SD	1 (8)	3 (30)	
<i>ECG:</i>			
- Complete RBBB, n (%)	3 (23)	4 (40)	NS
- Epsilon wave, n (%)	1 (8)	2 (20)	NS
- Negative T V1-V3, n (%)	5 (38)	8 (80)	0.06
- Negative T V4-V6, n (%)	3 (23)	5 (50)	NS
<i>SAECG:</i>			
- filtered QRS	119.3 ± 24	126.2 ± 32	NS
- HFFA	44.7 ± 21	51.6 ± 32	NS
- voltage RMS last 40ms	28.3 ± 23	27.6 ± 23	NS
- mean voltage last 40ms	20.3 ± 16	18 ± 14	NS
<i>Echocardiogram / Cardiac IRM:</i>			
- RV hypokinesia, n (%)	9 (69)	6 (60)	NS
- RV dilation, n (%)	6 (46)	7 (70)	NS
- RV aneurysms, n (%)	8 (61)	2 (20)	0.06
- Fibrofatty replacement, n (%)	3 (23)	2 (20)	NS
- RV EF (%)	49 ± 12	41 ± 7	0.08
- Definite LV involvement, n (%)	3 (23)	2 (20)	NS
- LV EF (%)	59.8 ± 4	54.9 ± 9	NS
<i>Arrhythmias:</i>			
- Mean number of VPB in 24h-Holter	490 ± 1187	5207 ± 6202	0.05
- >1000 PVB in 24h-Holter, n (%)	1 (8)	6 (60)	0.05
- Inducibility of VF in EPS, n (%)	2 (15)	4 (40)	NS
- Spontaneous sustained VT, n (%)	6 (46)	8 (80)	NS
- VT requiring cardioversion, VF or SD ever, n (%)	2 (15)	5 (50)	0.09
<i>Clinical diagnosis:</i>			
- Mean major criteria per patient	2.08 ± 0.8	1.7 ± 0.8	NS
- Mean minor criteria per patient	1.23 ± 0.6	1.8 ± 0.9	NS

Table 6. Clinical characteristics according to the number of mutations

	No mutation (n=13)	One mutation (n=6)	Two or more mutations (n=4)	P
Sex (female), n (%)	7 (54)	4 (67)	3 (75)	NS
Age at diagnosis (years)	53.4 ± 12	41.3 ± 16	42.2 ± 6	0.08
<i>Symptoms at diagnosis, n (%):</i>				0.05
- Asymptomatic or mildly symptomatic	10 (77)	3 (50)	0 (0)	
- Syncope	2 (15)	1 (17)	3 (75)	
- Sustained VT/VF or aborted SD	1 (8)	2 (33)	1 (25)	
<i>ECG:</i>				
- Complete RBBB, n (%)	3 (23)	2 (33)	2 (50)	NS
- Epsilon wave, n (%)	1 (8)	2 (33)	0 (0)	NS
- Negative T V1-V3, n (%)	5 (38)	4 (67)	4 (100)	0.08
- Negative T V4-V6, n (%)	3 (23)	2 (33)	3 (75)	NS
<i>Echocardiogram / Cardiac IRM:</i>				
- RV hypokinesia, n (%)	9 (69)	3 (50)	3 (75)	NS
- RV dilation, n (%)	6 (46)	4 (67)	3 (75)	NS
- RV aneurysms, n (%)	8 (61)	1 (17)	1 (25)	NS
- RV EF, n (%)	49 ± 12	44 ± 9	37.3 ± 5	NS
- Definite LV involvement, n (%)	3 (23)	1 (17)	1 (25)	NS
- LV EF, n (%)	59.8 ± 4	58 ± 5	50.2 ± 13	NS
<i>Arrhythmias:</i>				
- Mean number of PVB in 24h-Holter	490 ± 1187	4503 ± 4257	6379 ± 9750	NS
- >1000 PVB in 24h-Holter, n (%)	1 (8)	4 (67)	2 (50)	NS
- Inducibility of VF in EPS, n (%)	2 (15)	2 (33)	2 (50)	NS
- Spontaneous sustained VT, n (%)	6 (46)	4 (67)	4 (100)	NS
- VT requiring cardioversion, VF or SD ever, n (%)	2 (15)	3 (50)	2 (50)	NS
<i>Clinical diagnosis:</i>				
- Mean major criteria per patient	2.08 ± 0.8	1.83 ± 0.7	1.5 ± 1	NS
- Mean minor criteria per patient	1.23 ± 0.6	1.5 ± 1	2.25 ± 0.5	0.06

REFERENCES

1. Calkins, H., *Arrhythmogenic right-ventricular dysplasia/cardiomyopathy*. Curr Opin Cardiol, 2006. **21**(1): p. 55-63.
2. Marcus, F.I., et al., *Right ventricular dysplasia: a report of 24 adult cases*. Circulation, 1982. **65**(2): p. 384-98.
3. Ahmad, F., *The molecular genetics of arrhythmogenic right ventricular dysplasia-cardiomyopathy*. Clin Invest Med, 2003. **26**(4): p. 167-78.
4. Fontaine, G., Guiraudon, G., Frank, *Stimulation studies and Epicardial mapping in Ventricular Tachycardia: study of mechanism and selection for surgery*, in *Reentrant Arrhythmias*, H. HE, Editor. 1977, MTP: Lancaster. p. 334-50.
5. Ananthasubramaniam, K. and F. Khaja, *Arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy: review for the clinician*. Prog Cardiovasc Dis, 1998. **41**(3): p. 237-46.
6. Fontaine, G., et al., *Arrhythmogenic right ventricular dysplasia*. Annu Rev Med, 1999. **50**: p. 17-35.
7. Saliba, W.I. and A. Natale, *Ventricular tachycardia syndromes*. Med Clin North Am, 2001. **85**(2): p. 267-304.
8. Protonotarios, N., et al., *Cardiac abnormalities in familial palmoplantar keratosis*. Br Heart J, 1986. **56**(4): p. 321-6.
9. McKenna, W.J., et al., *Diagnosis of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy*. Task Force of the Working Group Myocardial and Pericardial Disease of the European Society of Cardiology and of the Scientific Council on Cardiomyopathies of the International Society and Federation of Cardiology. Br Heart J, 1994. **71**(3): p. 215-8.
10. Bomma, C., et al., *Misdiagnosis of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy*. J Cardiovasc Electrophysiol, 2004. **15**(3): p. 300-6.
11. van Tintelen, J.P., et al., *Molecular genetics of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: emerging horizon?* Curr Opin Cardiol, 2007. **22**(3): p. 185-92.
12. Thiene, G., D. Corrado, and C. Basso, *Cardiomyopathies: is it time for a molecular classification?* Eur Heart J, 2004. **25**(20): p. 1772-5.

13. Green, K.J. and C.A. Gaudry, *Are desmosomes more than tethers for intermediate filaments?* Nat Rev Mol Cell Biol, 2000. **1**(3): p. 208-16.
14. Gerull, B., et al., *Mutations in the desmosomal protein plakophilin-2 are common in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.* Nat Genet, 2004. **36**(11): p. 1162-4.
15. Awad, M.M., et al., *DSG2 mutations contribute to arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy.* Am J Hum Genet, 2006. **79**(1): p. 136-42.
16. Heuser, A., et al., *Mutant desmocollin-2 causes arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.* Am J Hum Genet, 2006. **79**(6): p. 1081-8.
17. Pilichou, K., et al., *Mutations in desmoglein-2 gene are associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.* Circulation, 2006. **113**(9): p. 1171-9.
18. Syrris, P., et al., *Arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy associated with mutations in the desmosomal gene desmocollin-2.* Am J Hum Genet, 2006. **79**(5): p. 978-84.
19. Syrris, P., et al., *Desmoglein-2 mutations in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: a genotype-phenotype characterization of familial disease.* Eur Heart J, 2007. **28**(5): p. 581-8.
20. Dalal, D., et al., *Clinical features of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy associated with mutations in plakophilin-2.* Circulation, 2006. **113**(13): p. 1641-9.
21. Syrris, P., et al., *Clinical expression of plakophilin-2 mutations in familial arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.* Circulation, 2006. **113**(3): p. 356-64.
22. van Tintelen, J.P., et al., *Plakophilin-2 mutations are the major determinant of familial arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy.* Circulation, 2006. **113**(13): p. 1650-8.
23. Yang, Z., et al., *Desmosomal dysfunction due to mutations in desmoplakin causes arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy.* Circ Res, 2006. **99**(6): p. 646-55.
24. Bauce, B., et al., *Clinical profile of four families with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy caused by dominant desmoplakin mutations.* Eur Heart J, 2005. **26**(16): p. 1666-75.

25. Asimaki, A., et al., *A novel dominant mutation in plakoglobin causes arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy*. Am J Hum Genet, 2007. **81**(5): p. 964-73.
26. Ahmad, F., et al., *Localization of a gene responsible for arrhythmogenic right ventricular dysplasia to chromosome 3p23*. Circulation, 1998. **98**(25): p. 2791-5.
27. Beffagna, G., et al., *Regulatory mutations in transforming growth factor-beta3 gene cause arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 1*. Cardiovasc Res, 2005. **65**(2): p. 366-73.
28. Li, D., et al., *The locus of a novel gene responsible for arrhythmogenic right-ventricular dysplasia characterized by early onset and high penetrance maps to chromosome 10p12-p14*. Am J Hum Genet, 2000. **66**(1): p. 148-56.
29. Melberg, A., et al., *Autosomal dominant myofibrillar myopathy with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy linked to chromosome 10q*. Ann Neurol, 1999. **46**(5): p. 684-92.
30. Rampazzo, A., et al., *The gene for arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy maps to chromosome 14q23-q24*. Hum Mol Genet, 1994. **3**(6): p. 959-62.
31. Rampazzo, A., et al., *Mutation in human desmoplakin domain binding to plakoglobin causes a dominant form of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy*. Am J Hum Genet, 2002. **71**(5): p. 1200-6.
32. Rampazzo, A., et al., *ARVD4, a new locus for arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy, maps to chromosome 2 long arm*. Genomics, 1997. **45**(2): p. 259-63.
33. Severini, G.M., et al., *A new locus for arrhythmogenic right ventricular dysplasia on the long arm of chromosome 14*. Genomics, 1996. **31**(2): p. 193-200.
34. Tiso, N., et al., *Identification of mutations in the cardiac ryanodine receptor gene in families affected with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 2 (ARVD2)*. Hum Mol Genet, 2001. **10**(3): p. 189-94.
35. McKoy, G., et al., *Identification of a deletion in plakoglobin in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy with palmoplantar keratoderma and woolly hair (Naxos disease)*. Lancet, 2000. **355**(9221): p. 2119-24.
36. Beffagna, G., et al., *Missense mutations in desmocollin-2 N-terminus, associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy, affect intracellular localization of desmocollin-2 in vitro*. BMC Med Genet, 2007. **8**: p. 65.

37. Uzumcu, A., et al., *Loss of desmoplakin isoform I causes early onset cardiomyopathy and heart failure in a Naxos-like syndrome*. J Med Genet, 2006. **43**(2): p. e5.
38. Lahtinen, A.M., et al., *Plakophilin-2 missense mutations in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy*. Int J Cardiol, 2008. **126**(1): p. 92-100.

Chapitre 3. Discussion

1.1 Mise en contexte

La cardiomyopathie arythmogène du ventricule droit est une maladie extrêmement difficile à diagnostiquer chez les cas intermédiaires. La présence d'altérations morphologiques très focalisées peuvent échapper aux technologies de diagnostic les plus sophistiquées. La biopsie peut permettre une preuve définitive et indéniable de la maladie avec la présence de tissus fibro-adipeux dans le myocarde. Cependant, elle ne permet pas toujours le diagnostic dans la mesure où l'échantillon de tissus prélevé du septum interventriculaire du patient est une portion du cœur souvent épargné par l'infiltration fibro-adipeuse. C'est avec cette perspective que les chercheurs ont établis une liste de critères qui considère l'historique familial, les symptômes, et les paramètres morphologique et électrique. Ces critères sont fort utiles dans les cas les plus sévères, même s'ils manquent de spécificité. Il n'est pas rare de rencontrer un individu qui rempli certains critères de la maladie, mais pas suffisamment pour permettre le diagnostic. Ces cas intermédiaires sont devenus des problèmes récurrents pour le cardiologue surtout à cause des conséquences importantes qu'un patient potentiellement atteint et sa famille peuvent vivre dans le futur.

1.2 Objectifs

L'identification d'une partie des gènes responsables d'ARVC/D a permis le diagnostic d'individus ainsi que des membres de leurs famille à risque. Ce qui initialement était un outil exclusif à la recherche est devenu un outil clinique important. L'analyse génétique permet d'identifier les individus à risque et ceux qui sont épargnés de manière à prévenir la mort subite. Les outils cliniques classiques manquant de spécificité, nous avons choisi dans ce projet d'étudier et d'analyser la valeur du test génétique dans la confirmation de la maladie et aussi d'évaluer si elle pourrait avoir un rôle important de diagnostic chez les individus qui ne remplissent pas complètement les critères cliniques établis, et où il y a ambiguïté quant au diagnostic.

1.3 Méthodologie

Dans cet article, nous avons effectué une analyse génétique et clinique de 23 patients de façon consécutive ayant un diagnostique confirmé ou suspect pour ARVC/D. De plus, nous avons effectué une corrélation phénotype-génotype des cas-index positifs (avec mutation). Le processus de validation lors de l'identification d'un variant chez un patient-index commençait par un reséquençage à partir d'une nouvelle réaction PCR. Si ce variant était confirmé, nous testions simultanément tous les membres de famille disponible. Nous nous assurons ainsi que tous les membres malades possédaient ce même variant, si un membre malade ne possédait pas le variant c'était que celui-ci n'était pas la cause directe d'ARVC/D. Parallèlement, si ce variant n'était pas connu de la littérature, il était testé dans une cohorte de 200 personnes et ce variant devait être absent de ces contrôles. Toutes les séquences ont été analysées à l'œil sans logiciel pour la gestion de séquences. La référence génomique utilisée provient de *l'UCSC Genome Browser*, <http://genome.ucsc.edu/>.

1.4 Analyse des résultats

Cinq patients ne rencontraient pas les critères cliniques pour le diagnostique, mais à cause de leurs caractéristiques morphologiques et électriques, nous avons suspecté qu'ils pouvaient être atteints. Nous avons décidé d'effectuer un dépistage génétique pour évaluer si le test génétique pouvait renforcer les données cliniques. 3/5 de ces patients étaient porteurs de mutations dans les protéines des desmosomes prouvant la valeur ajoutée du dépistage génétique dans le diagnostique d'ARVC/D chez les cas intermédiaires. Nous avons montré que des 18 cas-index, ayant un diagnostique clair selon les critères usuels, 38% (n=7) étaient porteurs de mutations. Ces données concordent avec des études publiées par le passé. De ces 10 cas-index positifs (3+7), nous avons identifié 14 mutations différentes, 15 au total. Nous pouvons voir que PKP2 est le gène le plus souvent responsable (35%) pour ARVC/D. Les valeurs de DSP (8.7%) [72, 120] et de DSG2 (8.7) [69, 72, 74] sont similaires aux valeurs trouvées dans la littérature. La valeur de DSC2 (13%) [71, 73] est peu plus élevée qu'attendu, mais la valeur de notre échantillon est trop petit pour le considérer significatif. Il est important

de mentionner le pourcentage très élevé de mutations nouvelles (n'ayant jamais été décrite): 64%. Ce fait a des implications importantes en ce qui a trait aux tests génétiques utilisant une technologie exclusivement basée sur les mutations déjà répertoriées. Étonnamment, 40% (n=4) des cas-index positifs sont porteurs d'une double ou d'une triple mutation. Ceci nous permet de constater à quel point il est important de dépister les individus pour tous les gènes, plus spécialement s'il y a intention d'évaluer le risque de la maladie dans les membres d'une famille affectée.

La pathogénicité des nouvelles mutations identifiées ne peut être établie avec certitude. Des deux nouvelles mutations dans DSP, la délétion 2501_2502delCE n'est pas localisée dans un domaine fonctionnel de la protéine alors que la substitution N1526K est située dans le domaine fonctionnel super hélice de la protéine (domaine central de baguette fibreuse). Toutes les nouvelles mutations dans PKP2 sont localisées hors des domaines fonctionnels de la protéine, mais se trouvent dans des régions conservées du gène PKP2 pour l'humain, le chimpanzé, le hérisson, le chien et la souris. Les nouvelles mutations dans DSC2 sont localisées à l'intérieur des domaines fonctionnel de la protéine. Ainsi la délétion 96delC stoppe la traduction de la protéine à l'étape du propeptide, I231T est situé dans le domaine cadhérine-1 et T340A est situé dans le domaine cadhérine-2 de DSC2. La délétion 96delC et la substitution I231T sont localisées dans une région nucléotidique conservée du gène chez l'humain, le chimpanzé, le chien, la souris et le pika. La substitution T340A est aussi dans une séquence conservée chez les mêmes animaux sauf le pika.

Plusieurs polymorphismes ont été identifiés durant le dépistage génétique. Il est intéressant de constater que la majorité des cas-index négatifs ont plus de trois polymorphismes non-synonymes; leurs implications restent cependant inconnues. Pendant un temps considérés comme sans effet, il est maintenant possible que ces polymorphismes pourraient jouer un rôle dans la modulation de la sévérité de la maladie lorsqu'associés avec d'autres variants (mutations ou polymorphismes). Un polymorphisme sur un gène pourrait donc avoir un effet fonctionnel lorsqu'associé avec un ou des variants de la même ou de d'autres protéines des desmosomes. Nous savons que le polymorphisme M697L dans JUP a été identifié de coségrégier avec la mutation

non-sens R1267X dans DSP dans une famille avec une ARVC/D à présentation précoce. En effet, il a été suggéré que ce polymorphisme avait un effet modifiant négatif sur le phénotype cardiaque avec la présence de la mutation décrite dans DSP [130]. Ce polymorphisme est le plus présent parmi les cas-index négatifs (69%) et si, d'après l'étude susmentionnée, il existe un rôle fonctionnel à M697L, cela pourrait expliquer en partie pourquoi ces cas-index négatifs sont malades. Un second polymorphisme connu, P366L dans PKP2, est relativement présent chez les cas-index négatifs (31%). Ce variant ne change pas la charge globale de l'acide aminé, et selon Lahtinen (2008), les fréquences alléliques entre les patients atteints d'ARVC/D et les contrôles sains ne sont pas significativement différents [131]. Le variant K773R, identifié dans DSG2 à 46% chez les cas-index négatifs, n'a pas d'association clinique connue et ne change pas la charge globale de l'acide aminé. Quant à lui, le variant R1738Q, le plus présent chez les cas-index positifs (36%) prédit un changement d'un acide aminé large et basique, vers un autre d'une grandeur moyenne et polaire dans une région conservée de la protéine, la super hélice. Aucune association clinique de ce variant n'a été identifiée jusqu'à ce jour.

Tous les patients n'ont pas été séquencés en entier pour tous les gènes. Évidemment, il y eut un effort de couvrir tous les gènes sur les patients le plus possible. En effet, les patients négatifs pour une mutation (n=13) ont été séquencés en moyenne à 96% pour les 5 gènes. Les patients positifs (n=10) ont été séquencés quant à eux en moyenne à 53%. Notre cohorte très limitée ne permet pas de conclure de corrélations phénotype-génotype (tableau 6) et par conséquent, ces résultats doivent être interprétés avec prudence. Les individus porteurs de mutations étaient plus jeunes au moment du diagnostic et comportaient plus de symptômes. Il n'y a cependant pas de corrélation avec des anomalies structurelles plus grandes. La présence de plus d'une mutation chez un même individu est associée à plus de symptômes et à une fraction d'éjection ventriculaire gauche diminuée. Alors que la présence de plusieurs mutations devrait être associée à un phénotype plus sévère, les connaissances du rôle des variations dans la modulation du phénotype ainsi ce qui détermine la prévalence, est encore inconnu.

1.5 Conclusion

Dans un groupe de patients avec des caractéristiques ARVC/D, le dépistage génétique est fort utile pour confirmer des diagnostics et pour permettre l'adoption de mesures préventives adéquates chez les membres de la famille. Les individus porteurs de mutations sont généralement plus jeunes et tendent à avoir plus de symptômes. Ils ont des épisodes d'arythmie plus fréquents et n'ont pas d'anomalies de structure lorsqu'étudiées avec une technologie non invasive. L'utilisation du test génétique apporte une grande valeur au diagnostic pour les individus qui ne remplissent pas complètement les critères connus.

Notre cohorte étant très limitée, il est impératif de considérer nos résultats avec prudence. De plus, les comparaisons entre les individus porteurs de mutation et les autres cas-index négatifs ont une valeur limitée, car ce dernier groupe est susceptible de comporter des patients avec une variété de causes qui présente un phénotype ARVC. Les patients référés à la Clinique de Génétique cardiovasculaire de l'Institut de Cardiologie de Montréal reflètent probablement les cas à présentation les plus sévères dans l'éventail de la maladie. Par conséquent, la population étudiée ne peut pas être considérée comme représentative de l'expression variable de la maladie. Le caractère familial d'ARVC/D n'a pu être établi que dans les membres de la famille qui ont volontairement accepté les examens cliniques suite aux analyses génétiques. De plus, des raisons, par exemple, psychologique ou socio-économiques de certains individus sous-tendent peut-être le choix de s'abstenir à la participation aux analyses génétiques, ce qui conduit à un biais dans la famille d'évaluation. Comme nous avons délibérément exclu les gènes de la RYR2 et de TGF- β 3, il est aussi possible que les cas-index négatifs soient porteurs de mutation(s) dans ces gènes, et il s'agit ici d'une autre limitation potentielle de l'étude. En outre, des mutations dans la région entière du promoteur des gènes étudiés ne peuvent pas être exclues, puisque non analysées. Néanmoins, nos données démontrent que l'utilisation du dépistage génétique basé sur les mutations déjà connues a une valeur limitée due au pourcentage élevé de mutations nouvelles dans cette maladie. La présence de double ou de triple mutant n'est pas associée avec un phénotype plus sévère, mais atteste cependant l'importance d'une

analyse génétique complète pour l'identification des membres d'une famille à risque, sa protection ainsi que sa prévention.

Références

1. Guyton, A.C., Hall, J.E., *Textbook of Medical Physiology* 11ième éd ed. 2006, Univ. of Mississippi: Jackson: Elsevier Saunders.
2. Nitenberg, A.M., J.-J, *Hémodynamique cardiaque*, in *Cardiologie et maladies vasculaires* S.F.d. Cardiologie, Editor. 2007, Elsevier Masson SAS: France. p. 54-60.
3. Levy, B.B., P, *Circulation systémique*, in *Cardiologie et maladies vasculaires*, S.F.d. Cardiologie, Editor. 2007, Elsevier Masson SAS: France. p. 60-65.
4. Hatem, S.V., G, *Électrophysiologie des myocytes cardiaques*, in *Cardiologie et maladies vasculaires* S.F.d. Cardiologie, Editor. 2007, Elsevier Masson SAS: France. p. 20-25.
5. Crozatier, B., Charlemagne, D., *Fonction contractile des myocytes*, in *Cardiologie et maladies vasculaires* S.F.d. Cardiologie, Editor. 2007, Elsevier Masson SAS: France. p. 25-28.
6. Scheidt, S., *Basic Electrophysiology*. 1986, USA: CIBA-GEIGY.
7. Fisch, C., *Clinical competence in electrocardiography. A statement for physicians from the ACP/ACC/AHA Task Force on Clinical Privileges in Cardiology*. *Circulation*, 1995. **91**(10): p. 2683-6.
8. Sende, J., *Guide pratique de l'ECG*. 2003, France: ESTEM.
9. Bogdan, G., Ionescu, X., Iwona, V., Kiewicz, C., Bayes- Genis, A., Bayes de Luna, A, *Monitoring Ectopic Activity*, in *Dynamic Electrocardiography*, M.C. Malik, A.J, Editor. 2004, Blackwell Futura: New-York. p. 549-59.
10. Desnos, M., *Définition et classification des cardiomyopathies*, in *Cardiologie et maladies vasculaires*, S.F.d. Cardiologie, Editor. 2007, Elsevier Masson SAS: France. p. 743-5.
11. Richardson, P., et al., *Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of cardiomyopathies*. *Circulation*, 1996. **93**(5): p. 841-2.
12. Corrado, D., et al., *Spectrum of clinicopathologic manifestations of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: a multicenter study*. *J Am Coll Cardiol*, 1997. **30**(6): p. 1512-20.
13. Ananthasubramaniam, K. and F. Khaja, *Arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy: review for the clinician*. *Prog Cardiovasc Dis*, 1998. **41**(3): p. 237-46.
14. Fontaine, G., Guiraudon, G., Frank, *Stimulation studies and Epicardial mapping in Ventricular Tachycardia: study of mechanism and selection for surgery*, in *Reentrant Arrhythmias*, H. HE, Editor. 1977, MTP: Lancaster. p. 334-50.
15. Marcus, F.I., et al., *Right ventricular dysplasia: a report of 24 adult cases*. *Circulation*, 1982. **65**(2): p. 384-98.
16. Ahmad, F., *The molecular genetics of arrhythmogenic right ventricular dysplasia-cardiomyopathy*. *Clin Invest Med*, 2003. **26**(4): p. 167-78.

17. Anderson, E.L., *Arrhythmogenic right ventricular dysplasia*. Am Fam Physician, 2006. **73**(8): p. 1391-8.
18. Fontaine, G., et al., *Arrhythmogenic right ventricular dysplasia*. Annu Rev Med, 1999. **50**: p. 17-35.
19. Pinamonti, B., et al., *Familial right ventricular dysplasia with biventricular involvement and inflammatory infiltration*. Heart Muscle Disease Study Group. Heart, 1996. **76**(1): p. 66-9.
20. Saliba, W.I. and A. Natale, *Ventricular tachycardia syndromes*. Med Clin North Am, 2001. **85**(2): p. 267-304.
21. C, B.-L., et al., *Arrhythmogenic right ventricular dysplasia presenting with ventricular tachycardia in a father and son*. Clin Cardiol, 1987. **10**(4): p. 277-83.
22. Frances, R., A.M. Rodriguez Benitez, and D.R. Cohen, *Arrhythmogenic right ventricular dysplasia and anterior polar cataract*. Am J Med Genet, 1997. **73**(2): p. 125-6.
23. Buja, G.F., et al., *Right ventricular dysplasia: a familial cardiomyopathy?* Eur Heart J, 1989. **10 Suppl D**: p. 13-5.
24. Laurent, M., et al., *Familial form of arrhythmogenic right ventricular dysplasia*. Am Heart J, 1987. **113**(3): p. 827-9.
25. Nava, A., et al., *A polymorphic form of familial arrhythmogenic right ventricular dysplasia*. Am J Cardiol, 1987. **59**(15): p. 1405-9.
26. Nava, A., et al., *Familial occurrence of right ventricular dysplasia: a study involving nine families*. J Am Coll Cardiol, 1988. **12**(5): p. 1222-8.
27. Coonar, A.S., et al., *Gene for arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy with diffuse nonepidermolytic palmoplantar keratoderma and woolly hair (Naxos disease) maps to 17q21*. Circulation, 1998. **97**(20): p. 2049-58.
28. Basso, C., et al., *Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. Dysplasia, dystrophy, or myocarditis?* Circulation, 1996. **94**(5): p. 983-91.
29. *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*, ed. B. E. 1984, Philadelphia: Pa: WB Saunders.
30. Buja, G., et al., *Right ventricular cardiomyopathy in identical and nonidentical young twins*. Am Heart J, 1993. **126**(5): p. 1187-93.
31. Canciani, B., et al., *A casual spontaneous mutation as possible cause of the familial form of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (arrhythmogenic right ventricular dysplasia)*. Clin Cardiol, 1992. **15**(3): p. 217-9.
32. Fontaine, G., et al., *[Congenital and acquired right ventricular dysplasia]*. Arch Mal Coeur Vaiss, 1990. **83**(7): p. 915-20.
33. Miani, D., et al., *Right ventricular dysplasia: a clinical and pathological study of two families with left ventricular involvement*. Br Heart J, 1993. **69**(2): p. 151-7.
34. Rakovec, P., et al., *Familial arrhythmogenic right ventricular disease*. Am J Cardiol, 1986. **58**(3): p. 377-8.
35. Sabel, K.G., et al., *Arrhythmogenic right ventricular dysplasia in brother and sister: is it related to myocarditis?* Pediatr Cardiol, 1990. **11**(2): p. 113-6.

36. Hofmann, R., et al., *Chronic (or healed) myocarditis mimicking arrhythmogenic right ventricular dysplasia*. Eur Heart J, 1993. **14**(5): p. 717-20.
37. Lobo, F.V., et al., *Right ventricular dysplasia: morphological findings in 13 cases*. Can J Cardiol, 1992. **8**(3): p. 261-8.
38. Thiene, G., et al., *Right ventricular cardiomyopathy: is there evidence of an inflammatory aetiology?* Eur Heart J, 1991. **12 Suppl D**: p. 22-5.
39. Matsumori, A. and C. Kawai, *Coxsackie virus B3 perimyocarditis in BALB/c mice: experimental model of chronic perimyocarditis in the right ventricle*. J Pathol, 1980. **131**(2): p. 97-106.
40. Rossi, P.A., *Arrhythmogenic right ventricular dysplasia--clinical features*. Eur Heart J, 1989. **10 Suppl D**: p. 7-9.
41. Coumbe, A., et al., *Arrhythmogenic right ventricular dysplasia (ARVD): an overlooked and underdiagnosed condition?* Med Sci Law, 1997. **37**(3): p. 262-5.
42. Valente, M., Calabrese, F., Angelini, A., Caforio, A., Basso, C., Thiene, G., *Pathobiology*, in *Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia* A. Nava, Rossi, L., Thiene, G, Editor. 1997, Elsevier: Amsterdam. p. 147-58.
43. O'Donnell, D., et al., *Clinical and electrophysiological differences between patients with arrhythmogenic right ventricular dysplasia and right ventricular outflow tract tachycardia*. Eur Heart J, 2003. **24**(9): p. 801-10.
44. Kayser, H.W., et al., *Diagnosis of arrhythmogenic right ventricular dysplasia: a review*. Radiographics, 2002. **22**(3): p. 639-48; discussion 649-50.
45. Bomma, C., et al., *Misdiagnosis of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy*. J Cardiovasc Electrophysiol, 2004. **15**(3): p. 300-6.
46. McKenna, W.J., et al., *Diagnosis of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy*. Task Force of the Working Group Myocardial and Pericardial Disease of the European Society of Cardiology and of the Scientific Council on Cardiomyopathies of the International Society and Federation of Cardiology. Br Heart J, 1994. **71**(3): p. 215-8.
47. Thiene, G., et al., *Right ventricular cardiomyopathy and sudden death in young people*. N Engl J Med, 1988. **318**(3): p. 129-33.
48. Hamid, M.S., et al., *Prospective evaluation of relatives for familial arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia reveals a need to broaden diagnostic criteria*. J Am Coll Cardiol, 2002. **40**(8): p. 1445-50.
49. Fontaine, G., F. Fontaliran, and R. Frank, *Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathies: clinical forms and main differential diagnoses*. Circulation, 1998. **97**(16): p. 1532-5.
50. Stevenson, I. and J. Kalman, *Magnetic resonance imaging in the diagnosis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: the gold standard or just another imaging modality?* J Interv Card Electrophysiol, 2004. **10**(1): p. 27-9.
51. Lopez-Fernandez, T., et al., *Usefulness of contrast echocardiography in arrhythmogenic right ventricular dysplasia*. J Am Soc Echocardiogr, 2004. **17**(4): p. 391-3.
52. White, J.B., et al., *Relative utility of magnetic resonance imaging and right ventricular angiography to diagnose arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy*. J Interv Card Electrophysiol, 2004. **10**(1): p. 19-26.

53. Auffermann, W., et al., *Arrhythmogenic right ventricular disease: MR imaging vs angiography*. AJR Am J Roentgenol, 1993. **161**(3): p. 549-55.
54. Blake, L.M., M.M. Scheinman, and C.B. Higgins, *MR features of arrhythmogenic right ventricular dysplasia*. AJR Am J Roentgenol, 1994. **162**(4): p. 809-12.
55. Ricci, C., et al., *Magnetic resonance imaging in right ventricular dysplasia*. Am J Cardiol, 1992. **70**(20): p. 1589-95.
56. Tandri, H., et al., *Magnetic resonance and computed tomography imaging of arrhythmogenic right ventricular dysplasia*. J Magn Reson Imaging, 2004. **19**(6): p. 848-58.
57. Iesaka, Y., et al., *Usefulness of electrophysiologic study and endomyocardial biopsy in differentiating arrhythmogenic right ventricular dysplasia from idiopathic right ventricular tachycardia*. Heart Vessels Suppl, 1990. **5**: p. 65-9.
58. Ahmad, F., et al., *Localization of a gene responsible for arrhythmogenic right ventricular dysplasia to chromosome 3p23*. Circulation, 1998. **98**(25): p. 2791-5.
59. Beffagna, G., et al., *Regulatory mutations in transforming growth factor-beta3 gene cause arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 1*. Cardiovasc Res, 2005. **65**(2): p. 366-73.
60. Li, D., et al., *The locus of a novel gene responsible for arrhythmogenic right-ventricular dysplasia characterized by early onset and high penetrance maps to chromosome 10p12-p14*. Am J Hum Genet, 2000. **66**(1): p. 148-56.
61. Melberg, A., et al., *Autosomal dominant myofibrillar myopathy with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy linked to chromosome 10q*. Ann Neurol, 1999. **46**(5): p. 684-92.
62. Rampazzo, A., et al., *The gene for arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy maps to chromosome 14q23-q24*. Hum Mol Genet, 1994. **3**(6): p. 959-62.
63. Rampazzo, A., et al., *Mutation in human desmoplakin domain binding to plakoglobin causes a dominant form of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy*. Am J Hum Genet, 2002. **71**(5): p. 1200-6.
64. Rampazzo, A., et al., *ARVD4, a new locus for arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy, maps to chromosome 2 long arm*. Genomics, 1997. **45**(2): p. 259-63.
65. Severini, G.M., et al., *A new locus for arrhythmogenic right ventricular dysplasia on the long arm of chromosome 14*. Genomics, 1996. **31**(2): p. 193-200.
66. Tiso, N., et al., *Identification of mutations in the cardiac ryanodine receptor gene in families affected with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 2 (ARVD2)*. Hum Mol Genet, 2001. **10**(3): p. 189-94.
67. McKoy, G., et al., *Identification of a deletion in plakoglobin in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy with palmoplantar keratoderma and woolly hair (Naxos disease)*. Lancet, 2000. **355**(9221): p. 2119-24.
68. Gerull, B., et al., *Mutations in the desmosomal protein plakophilin-2 are common in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy*. Nat Genet, 2004. **36**(11): p. 1162-4.

69. Awad, M.M., et al., *DSG2 mutations contribute to arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy*. Am J Hum Genet, 2006. **79**(1): p. 136-42.
70. Beffagna, G., et al., *Missense mutations in desmocollin-2 N-terminus, associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy, affect intracellular localization of desmocollin-2 in vitro*. BMC Med Genet, 2007. **8**: p. 65.
71. Heuser, A., et al., *Mutant desmocollin-2 causes arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy*. Am J Hum Genet, 2006. **79**(6): p. 1081-8.
72. Pilichou, K., et al., *Mutations in desmoglein-2 gene are associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy*. Circulation, 2006. **113**(9): p. 1171-9.
73. Syrris, P., et al., *Arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy associated with mutations in the desmosomal gene desmocollin-2*. Am J Hum Genet, 2006. **79**(5): p. 978-84.
74. Syrris, P., et al., *Desmoglein-2 mutations in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: a genotype-phenotype characterization of familial disease*. Eur Heart J, 2007. **28**(5): p. 581-8.
75. Basso, C., et al., *Ultrastructural evidence of intercalated disc remodelling in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: an electron microscopy investigation on endomyocardial biopsies*. Eur Heart J, 2006. **27**(15): p. 1847-54.
76. Kaplan, S.R., et al., *Structural and molecular pathology of the heart in Carvajal syndrome*. Cardiovasc Pathol, 2004. **13**(1): p. 26-32.
77. Kaplan, S.R., et al., *Remodeling of myocyte gap junctions in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy due to a deletion in plakoglobin (Naxos disease)*. Heart Rhythm, 2004. **1**(1): p. 3-11.
78. Kartenbeck, J., et al., *Specific attachment of desmin filaments to desmosomal plaques in cardiac myocytes*. Embo J, 1983. **2**(5): p. 735-42.
79. Getsios, S., A.C. Huen, and K.J. Green, *Working out the strength and flexibility of desmosomes*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2004. **5**(4): p. 271-81.
80. Huber, O., *Structure and function of desmosomal proteins and their role in development and disease*. Cell Mol Life Sci, 2003. **60**(9): p. 1872-90.
81. Andra, K., et al., *Targeted inactivation of plectin reveals essential function in maintaining the integrity of skin, muscle, and heart cytoarchitecture*. Genes Dev, 1997. **11**(23): p. 3143-56.
82. van Tintelen, J.P., et al., *Molecular genetics of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: emerging horizon?* Curr Opin Cardiol, 2007. **22**(3): p. 185-92.
83. Basso, C., G. Thiene, and A. Nava, *Letter regarding article by Norman et al, "novel mutation in desmoplakin causes arrhythmogenic left ventricular cardiomyopathy"*. Circulation, 2006. **113**(5): p. e68; author reply e69.
84. Jamora, C. and E. Fuchs, *Intercellular adhesion, signalling and the cytoskeleton*. Nat Cell Biol, 2002. **4**(4): p. E101-8.
85. Kostetskii, I., et al., *Induced deletion of the N-cadherin gene in the heart leads to dissolution of the intercalated disc structure*. Circ Res, 2005. **96**(3): p. 346-54.

86. Getsios, S., et al., *Coordinated expression of desmoglein 1 and desmocollin 1 regulates intercellular adhesion*. Differentiation, 2004. **72**(8): p. 419-33.
87. Garcia-Gras, E., et al., *Suppression of canonical Wnt/beta-catenin signaling by nuclear plakoglobin recapitulates phenotype of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy*. J Clin Invest, 2006. **116**(7): p. 2012-21.
88. Schmidt, A. and S. Jager, *Plakophilins--hard work in the desmosome, recreation in the nucleus?* Eur J Cell Biol, 2005. **84**(2-3): p. 189-204.
89. Mertens, C., et al., *Nuclear particles containing RNA polymerase III complexes associated with the junctional plaque protein plakophilin 2*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001. **98**(14): p. 7795-800.
90. Borrmann, C.M., et al., *The area composita of adhering junctions connecting heart muscle cells of vertebrates. II. Colocalizations of desmosomal and fascia adherens molecules in the intercalated disk*. Eur J Cell Biol, 2006. **85**(6): p. 469-85.
91. Franke, W.W., et al., *The area composita of adhering junctions connecting heart muscle cells of vertebrates. I. Molecular definition in intercalated disks of cardiomyocytes by immunoelectron microscopy of desmosomal proteins*. Eur J Cell Biol, 2006. **85**(2): p. 69-82.
92. Goossens, S., et al., *A unique and specific interaction between alphaT-catenin and plakophilin-2 in the area composita, the mixed-type junctional structure of cardiac intercalated discs*. J Cell Sci, 2007. **120**(Pt 12): p. 2126-36.
93. Oxford, E.M., et al., *Connexin43 remodeling caused by inhibition of plakophilin-2 expression in cardiac cells*. Circ Res, 2007. **101**(7): p. 703-11.
94. Burke, A.P., et al., *Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy and fatty replacement of the right ventricular myocardium: are they different diseases?* Circulation, 1998. **97**(16): p. 1571-80.
95. Fornes, P., S. Ratel, and D. Lecomte, *Pathology of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia--an autopsy study of 20 forensic cases*. J Forensic Sci, 1998. **43**(4): p. 777-83.
96. Kearney, D.L., et al., *Familial right ventricular dysplasia (cardiomyopathy)*. Pediatr Pathol Lab Med, 1995. **15**(1): p. 181-9.
97. Heim, A., et al., *Enterovirus heart disease of adults: a persistent, limited organ infection in the presence of neutralizing antibodies*. J Med Virol, 1997. **53**(3): p. 196-204.
98. Heim, A., et al., *Detection of enterovirus RNA in the myocardium of a patient with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy by in situ hybridization*. Clin Infect Dis, 1997. **25**(6): p. 1471-2.
99. Grumbach, I.M., et al., *Coxsackievirus genome in myocardium of patients with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy*. Cardiology, 1998. **89**(4): p. 241-5.
100. Calabrese, F., et al., *No detection of enteroviral genome in the myocardium of patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy*. J Clin Pathol, 2000. **53**(5): p. 382-7.
101. Calabrese, F., et al., *Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: is there a role for viruses?* Cardiovasc Pathol, 2006. **15**(1): p. 11-7.

102. Bowles, N.E., et al., *The detection of cardiotropic viruses in the myocardium of patients with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy*. J Am Coll Cardiol, 2002. **39**(5): p. 892-5.
103. Mallat, Z., et al., *Evidence of apoptosis in arrhythmogenic right ventricular dysplasia*. N Engl J Med, 1996. **335**(16): p. 1190-6.
104. Valente, M., et al., *In vivo evidence of apoptosis in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy*. Am J Pathol, 1998. **152**(2): p. 479-84.
105. James, T.N., *Normal and abnormal consequences of apoptosis in the human heart. From postnatal morphogenesis to paroxysmal arrhythmias*. Circulation, 1994. **90**(1): p. 556-73.
106. Sen-Chowdhry, S., *Genetics of Right Ventricular Cardiomyopathy*. J Cardiovasc Electrophysiol, 2005. **16**: p. 927-935.
107. Teodoro, J.G. and P.E. Branton, *Regulation of apoptosis by viral gene products*. J Virol, 1997. **71**(3): p. 1739-46.
108. Dalal, D., et al., *Clinical features of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy associated with mutations in plakophilin-2*. Circulation, 2006. **113**(13): p. 1641-9.
109. Syrris, P., et al., *Clinical expression of plakophilin-2 mutations in familial arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy*. Circulation, 2006. **113**(3): p. 356-64.
110. van Tintelen, J.P., et al., *Plakophilin-2 mutations are the major determinant of familial arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy*. Circulation, 2006. **113**(13): p. 1650-8.
111. Yang, Z., et al., *Desmosomal dysfunction due to mutations in desmoplakin causes arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy*. Circ Res, 2006. **99**(6): p. 646-55.
112. Nava, A., et al., *Clinical profile and long-term follow-up of 37 families with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy*. J Am Coll Cardiol, 2000. **36**(7): p. 2226-33.
113. Patten, R.D., et al., *17beta-estradiol reduces cardiomyocyte apoptosis in vivo and in vitro via activation of phospho-inositide-3 kinase/Akt signaling*. Circ Res, 2004. **95**(7): p. 692-9.
114. Pelzer, T., et al., *17beta-estradiol prevents programmed cell death in cardiac myocytes*. Biochem Biophys Res Commun, 2000. **268**(1): p. 192-200.
115. Dalal, D., et al., *Penetrance of mutations in plakophilin-2 among families with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy*. J Am Coll Cardiol, 2006. **48**(7): p. 1416-24.
116. Kannankeril, P.J., et al., *Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy due to a novel plakophilin 2 mutation: wide spectrum of disease in mutation carriers within a family*. Heart Rhythm, 2006. **3**(8): p. 939-44.
117. Alcalai, R., et al., *A recessive mutation in desmoplakin causes arrhythmogenic right ventricular dysplasia, skin disorder, and woolly hair*. J Am Coll Cardiol, 2003. **42**(2): p. 319-27.
118. Norgett, E.E., et al., *Recessive mutation in desmoplakin disrupts desmoplakin-intermediate filament interactions and causes dilated cardiomyopathy, woolly hair and keratoderma*. Hum Mol Genet, 2000. **9**(18): p. 2761-6.

119. van Tintelen, J.P., et al., *High yield of LMNA mutations in patients with dilated cardiomyopathy and/or conduction disease referred to cardiogenetics outpatient clinics*. Am Heart J, 2007. **154**(6): p. 1130-9.
120. Bauce, B., et al., *Clinical profile of four families with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy caused by dominant desmoplakin mutations*. Eur Heart J, 2005. **26**(16): p. 1666-75.
121. Awad, M.M., et al., *Recessive arrhythmogenic right ventricular dysplasia due to novel cryptic splice mutation in PKP2*. Hum Mutat, 2006. **27**(11): p. 1157.
122. Bauce, B., et al., *Screening for ryanodine receptor type 2 mutations in families with effort-induced polymorphic ventricular arrhythmias and sudden death: early diagnosis of asymptomatic carriers*. J Am Coll Cardiol, 2002. **40**(2): p. 341-9.
123. Norman, M., et al., *Novel mutation in desmoplakin causes arrhythmogenic left ventricular cardiomyopathy*. Circulation, 2005. **112**(5): p. 636-42.
124. Duffy, H.S., *How do myocytes tell right from left?* Circ Res, 2006. **99**(6): p. 563-4.
125. Stappenbeck, T.S., et al., *Phosphorylation of the desmoplakin COOH terminus negatively regulates its interaction with keratin intermediate filament networks*. J Biol Chem, 1994. **269**(47): p. 29351-4.
126. Schnittler, H.J., B. Puschel, and D. Drenckhahn, *Role of cadherins and plakoglobin in interendothelial adhesion under resting conditions and shear stress*. Am J Physiol, 1997. **273**(5 Pt 2): p. H2396-405.
127. Ruiz, P., et al., *Targeted mutation of plakoglobin in mice reveals essential functions of desmosomes in the embryonic heart*. J Cell Biol, 1996. **135**(1): p. 215-25.
128. Kirchhof, P., et al., *Age- and training-dependent development of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in heterozygous plakoglobin-deficient mice*. Circulation, 2006. **114**(17): p. 1799-806.
129. Asimaki, A., et al., *A novel dominant mutation in plakoglobin causes arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy*. Am J Hum Genet, 2007. **81**(5): p. 964-73.
130. Uzumcu, A., et al., *Loss of desmoplakin isoform I causes early onset cardiomyopathy and heart failure in a Naxos-like syndrome*. J Med Genet, 2006. **43**(2): p. e5.
131. Lahtinen, A.M., et al., *Plakophilin-2 missense mutations in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy*. Int J Cardiol, 2008. **126**(1): p. 92-100.